UNIVERSITE Dr YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES ET DE TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE DE PROCEDE

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention de master en chimie

Option : Normes et contrôle de qualité

optimisation de la croissance d'une micro-algue par un photo-bioréacteur cylindrique Annulaire

Présentées par :

- HAMMA Lwiza
- HOCINE Samia

Les membres de jury :

- ATSAMNIA Djamel(Président)
- BELHADJ Hichem (Examinateur)
- AINAS Mahfoud(Promoteur)

Année universitaire
2015-2016

Remerciement

Tout d'abord nous remercions Allah qui nous a donnée la bonne santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous remercions notre promoteur M.AINES.M qui a bien voulu accepter l'encadrement de notre travail pour ses précieuses orientations et ses valeureux conseils. Merci pour votre disponibilité.

Nous tenons à remercier sincèrement les membres du jury qui nous fait le grand honneur d'évaluer ce travail.

Nous remercions également l'ensemble des Enseignants d'université Dr. YAHIA- FARAS de Médéa, et particulièrement les enseignantes du département de génie des procédés.

Et enfin nous remercions l'ensemble, collègues de notre promos normes et contrôle qualité 2016 et tous nos amis et toute personnes ayant participé à la réalisation de ce travail .

Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

A mes très chers parents, *que dieu les garde et les protège pour leurs soutien moral et financier,pour leur encouragements les sacrifices qu'ils Ont endurés.*

A mes frères: Ammed ,Rafike.

A mes sœurs: Amina,Asmaa.

A toutes mes amies surtout: Chahinez,Soumia.

A ma binôme: Lwiza

A tous les amis d'études surtout de notre promos normes et contrôle de qualité 2016 .

A ma grande famille: HOCINE .

Dédicace

Je dédie ce mémoire A :

Mes parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leurs soutien,

Leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

Mes frères : Hafidh , Djamel et Hamid.

Mes soeurs :Hassiba ,Djamila,Fadhila,Saliha et ses enfants .

Touts mes amies et surtout: Hanane ,Fadhila et Hadjar .

Mes enseignants, mes collègues.

Ma binôme : Samia.

Ma grande famille :HAMMA .

ملخص

تهدف هذه الدراسة لتطوير زراعة السيانو بكتيري (سبيرولينا بلاتنسيس)الغير مثبة الازوت و تحسين نموها حيث تمت زراعتها في وسط يسمى زورق. قمنا بتحديد انتاجية الكتلة الحيوية ،معدل النمو ونسبة اليخضور في مفاعل حيوي ضوئي عن طريق اختبارتراكيز،شدة ضوء وسمك مختلفة للمفاعل الحيوي الحلقي (1 .25cm ,1.75cm ,2.25 cm) Eوقد سجلنا احسن انتاجية للكتلة الحيوية في المفاعل الحيوي الاقل سمكا (E=1,25cm5)كما تبين لنا ان شدة الضوء المناسبة للانتاج هي5500 لوكس بالنسبة للتركيز الضعيف للكتلة الحيوية.

الكلمات المفتاحية : سبيرولينا بلاتنسيس ، شدة الضوء ، انتاجية الكتلة الحيوية ،معدل النمو، اليخضور، المفاعل الحيوي .

Résumé :

La présente étude a eu pour objectif de développer la culture d'une cyanobactérie non fixatrice d'azote appelée *Spiruline (Arthrospira platensis)* et d'optimiser des paramètres de croissance de cette dernière, la souche a été cultivée sur milieu Zarrouk. La détermination de la productivité de la biomasse, le taux de croissance spécifique, les concentrations de chlorophylle ont été suivies dans un photo-bioréacteur annulaire. En testant différentes épaisseurs de photo-bioréacteurE (1,25cm, 1,75cm, 2,25cm), les densités de culture X_0 et intensités lumineuses. Les mouilleurs productivité de biomasse ont été obtenus pour photo-bioréacteurs faible épaisseur E = 1,25 cm. la valeur de l'intensité lumineuse optimale de production est de 5500 lux pour une concentration plus faible de la biomasse.

Mots clés : *Arthrospira platensis*, Intensité lumineuse, Productivité, µmax, chlorophylle, Photo-bioréacteur.

Abstract:

This study aimed to develop the culture of a non nitrogen-fixing cyanobacterium called Spirulina (Arthrospira platensis) and optimize the parameters of growth of the latter, the strain was grown on medium Zarrouk.

Determining the productivity of the biomass, the specific growth rate, chlorophyll levels were followed in an annular photo-bioreactor. By testing different thicknesses photo-bioreactor E (1,25cm, 1,75cm, 2,25cm), densities of culture X0 and light intensities, the best productions of biomass were obtained for photo-bioreactors low thickness E= 1.25 cm. the optimum light intensity value of production is 5500 lux for a lower concentration of biomass.

Key words: *Arthrospira platensis* , Light Intensity , Productivity, µmax, Chlorophylle, Photo-bioreactor.

Sommaire

Introduction ……..... 1

Chapitre I : Généralités sur la spiruline

I.1. Historique de la Spiruline ……..… 3
I.2. Etude biologique …… 3
I .2.1. Définition……...… 4
2.2.2.Les souchesd'*Arthrospiraplatensis* ……... 4
I.2.3.Taxonomie ……. 6
I .2.4.Toxicologie …… 7
I .2.5.Reproduction …… 7
I. 2.6.Composition chimique de la spiruline…….. 8
I .2.6.1.Protéines …….. 8
I .2.6.2.Glucides ……... 8
I .2.6.3.Lipides …….. 8
I .2.6.4.Vitamines……. 9
I .2.6.5.Minéraux et Oligoéléments ……. 9
I. *2.6.6. Pigments* …… 9
I. 2.7.Les Multiples usages de la spiruline……. 9
I .2.7.1. Approche nutritionnelle …… 9
I .2.7.2. Approche thérapeutique …….. 10
I .2.7.3.Aquaculture et aquariophilie……. 11
I.3. Etude écologique ……. 12
I .3.1 .Culture de la spiruline ……... 12
I .3.2. Distribution géographique ……. 12
I .3.3 .Milieu et conditions de croissance …….. 12

Chapitre II : La photosynthèse et le photo-bioréacteur

II.1. Généralités sur les microorganismes photosynthétiques……. 14
II.1.1. La photosynthèse ……. 14
II.1.2.. Fonctionnement du mécanisme photosynthétique ……... 16
II- 2 Généralités sur les photo-bioréacteurs …….. 20
II.2.1. Qu'est-ce que c'est un photo-bioréacteur ?..... 20
***II.2.2.Caractéristique des principaux types de photo-bioréacteurs*……. 20**
***II.2.2.1 Eclairage* …….. 20**
***II.2.2.2 Régulation* …… 22**
***II.2.3.* Les deux formes géométriques de PBR ……..... 22**
II .2.3.1 Les photo-bioréacteurs plats …… 23

II .2.3.2. Les photo-bioréacteurs cylindriques…….. 24

II .2.3. 2.1. Les photo-bioréacteurs de type colonne……. 24

II.2.3.2.2. Les photo-bioréacteurs de type annulaire……. 25

II.2.3.2.3 : Les photo-bioréacteurs tubulaire agencé horizontalement……. 26

II.2.3.2.4. Les photo-bioréacteurs tubulaires agencés verticalement ……. 27

Chapitre III : Matériel et méthodes

III .1.Matériel ……. …… 29

III.1.1.Matériel biologique …….. 30

III.1.2.Milieu de culture…… 30

III.1.3. Conception de réacteur annulaire……... 31

III.1.4. Appareillage……... 32

III .2. Les méthodes …… 32

III.2.1. Comment conduire une culture ?..... 32

III.2.2. Ensemencement…… 33

III.2.3 Agitation…… 34

III .2.4 : Mesure des paramètres cinétique de croissance …… 34

III .2 .5 Mesure de concentration……. 35

III 2.6.1. La courbe d'étalonnage…….. 36

III .2.7. Détermination de chlorophylle a …… 36

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV.1. L'effet des facteurs de milieu sur la production de biomasse ……. 38

IV.1.1. La courbe d'étalonnage ……. 38

IV.1.2. L'effet de l'intensité lumineuse sur PV et µ max dans le PBR à E=1,25cm……. 39

IV.1.3. L'effet de la concentration sur Pv et µ max dans le PBR à E=1,25 cm……. 40

IV.1.4. l'effet de concentration sur PV et µ max dans PBR à E=1,75 cm ……. 41

IV.1.5. l'effet de l'intensité lumineuse sur PV et μ_{max} dans PBR à E=1,75cm……. 42

IV.1.6. L'effet de la concentration sur PV et μ_{max} dans PBR à E=2,25……. 43

IV.1.7. Comparaison entre PV et μ_{max} à différent épaisseur de PBR…….. 44

IV.1.8. L'effet d'épaisseur sur PV et μ_{max} dans PBR, X_0=2,25 g/l ……... 45

IV.1.9. Comparaison entre PBR cylindrique et Annulaire…… 46

IV.1.10. Les Facteurs qui influencent sur le Chlorophylle …….. 48

IV.2. L'interprétation des résultats…….. 50

IV.2.1. L'effet de l'intensité lumineuse sur les paramétres de croissance dans PBR …… 50

IV.2.2. L'effet de la concentration ……... 52

.IV.2.3. L'effet de l'épaisseur de PBR …….. 52

Conclusion……..... 54

Annexe

Bibliographie

Liste des figures

Figure I.1: Différentiation *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis* : Filaments de spiruline observes au microscope optique …….....4

Figure I.2 : Morphologies typiques des *Arthrospira* ……..*6*

Figure I.3 : Cycle biologique de la Spiruline ……...8

FigureII.1: les deux types de réactions de photosynthèse……..15

Figure II-2: deux phases de photosynthèse……16

Figure II.3: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ :plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine ……17

Figure II.4: Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3- phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté ……19

Figure II.5: Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de micro-algues…….21

Figure II.6 : Géométrie du photo-bioréacteur plat…….23

Figure II.7: Photo-bioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit)……...25

Figure II.8 : Photo-bioréacteurs annulaires verticaux ……26

Figure II.9 :Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage (b)……27

Figure II. 10: Photo-bioréacteur « Biocoil » inventé par Lee Robinson ……...28

FigureIII.1: schéma générale de la structure de PBR annulaire……30

Figure III .2: photo-bioréacteur annulaire préparer au niveau de laboratoire……..31

Figure III . 3: La culture de spiruline préparé au niveau de laboratoire……....32

Figure III .4: Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle-a……36

Figure IV.1. Courbe étalonnage qui relie la densité optique et le poids sec de la culture……...39

Figure IV.2: l'effet de L'intensité lumineuse sur PVet μmax à X_0=1g/l…….....40

Liste des figures

Figure IV.3: l'effet de concentration sur PVet µmax à I =1000 lux…….41

Figure IV.4: l'effet de concentration sur PVet µmax à I=1000 lux …….42

Figure IV.5: l'effet de L'intensité lumineuse sur PVet µmax à X_0=2,25g/l X_0=3g/l……43

Figure IV.6: l'effet de concentration sur PVet µmax à I =5500 lux……..44

FigureIV.7: l'effet d'épaisseur sur Pv et µmax dans défirent PBR à I=1000lux……45

Figure IV.8: l 'effet d'epaisseur sur Pv et µmax dans déférents PBR à I=5500lux……..46

FigureIV.9: Comparaison entre PBR Cylindrique et Annulaire à x_0=1g/l.33 ……..47

Figure IV.10: les paramètres de culture obtenue au sein de PBR cylindrique (I =5500 lux, x_0=1g/l)……..48

Figure IV.11: l'effet de concentration sur le Chlorophylle- a à I =5500 lux…….49

Figure IV.12: l'effet de l'épaisseur sur chlorophylle-a à I =5500 lux…….50

FigureIV.13:distribution de la lumière a l'intérieur de PBR éclairé d'un seul coté……...51

Liste des tableaux :

Tableau I .1 : Les diverses appellations de la spiruline ……..5

Tableau I .2 : Taxonomie recapitulative ……. 7

Tableau III.1 : Milieu de culture de référence, le milieu Zarrouk ……13

TableauIII. 2: composition de la solution A_5 (g /l)…….**.....** 13

Tableau III.3 : composition de la solution B_6(en mg/l)……..14

Tableau III.4: Les paramètres expérimentaux sélectionnés pour l'étude……..35

Liste d’abréviation

Liste abréviation

ATP : adénosine triphosphate.

CID : le carbone inorganique dissous.

DO : densité optique.

PRB : photo -bioréacteur.

PBR Cyl : photo -bioréacteur Cylindrique.

PBR Annu : photo-bioréacteur Annulaire.

PSI : photosystèmes I.

PSII : photosystèmes II.

Ps : poids sec.

PV : productivité volumique.

PS 700 : photosystèmes I.

PS 680 : photosystèmes II.

µmax : la vitesse de croissance.

[Chl] : la teneur de Chlorophylle.

Nomenclateur des produits chimiques

CaCl2 : chlorure de calcium.

Co (NO3)2, (6 H2O): nitrate de cobalt.

CuSO4, (5 H2O):sulfate de cuivre.

FeSO4, (7H2O): sulfate ferreux monohydrate.

H3BO3: acide borique.

K2Cr2 (SO4)4, (24H2O): chromium potassium sulfate.

K2HPO4 : phosphate d'hydrogène de potassium.

K2SO4:sulfate de potassium.

MgSO4, (H2O)7 :Sulfate de magnisium sept fois hydraté.

MnCl2, (H2O)7 : chlorure de manganèse .

MOO3 : trioxyde de molybdène.

Na2WO4, (H2O)7 : tungstate de sodium deux fois hydraté.

NaCl : chlorure de sodium.

NADPH : Nicotinamide adénosine di phosphate.

NaHCO3 : bicarbonate de sodium.

NaNO3 : nitrate de potassium.

NH4VO3: vanadate d'ammonium.

NiSO4, (H2O)7: sulfate de nickel.

Ti2(SO4)3:sulfate de thallium.

ZnSO4, (7H2O): sulfate de zinc.

EDTA : acide éthylène diamino tétracetique.

Introduction :

On connaît actuellement quelques 25 000 espèces d'algues sur la planète Terre. Parmi elles, on peut distinguer une algue bleue microscopique, apparue avec les premiers êtres vivants il y à environ 3,5milliards d'années et considérée comme l'aliment naturel le plus complet de notre planète, il s'agit de la Cyanobactérie *Arthrospira Platinsis*, plus connue sous le nom de Spiruline [1]

La spiruline a été largement étudiée et son usage maintenant est répandu dans le monde entier comme un produit alimentaire et comme un complément alimentaire [2] [3]

Cette micro-algue est considérée comme une ressources alimentaires non conventionnelles qui offre jusqu'à 70 % de protéines, des sels minéraux, des Oglio-aliments et de nombreuses vitamines [4]. Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure tant par leur diversité morphologique et physiologique que par le rôle qu'elles ont joue en créant l'atmosphère aérobie nécessaire au développement de la vie. En effet, ces organismes procaryotes partagent avec les plantes la capacité d'éffectuer la photosynthèse en utilisant la lumière et l'eau pour la réduction du gaz carbonique, processus qui s'accompagne d'un dégagement d'oxygène [5].

La Culture d'algues en photo-biobioréacteur (enceintes dans les quelles se déroulent des interactions biologiques, ici, les réactions de photosynthèse en présence de lumière, et CO2, se multiplient des micro-organismes, utilisés pour la production de biomasse, d'un métabolite, pour la conversion d'une molécule, ...).

Le principal avantage de cette technique est qu'elle permet de contrôler les conditions de culture (circulation de gaz comme le CO2 ou l'O2, contrôle du pH, de la température, concentration en éléments nutritif).

Il existe défirent types de PBR plats, cylindrique et tubulaire l'utilisation de cette dernier permet avant tout de maintenir la stérilité de la culture, donc d'éviter la contamination du réacteur [6].

La spiruline est cultivée sur divers type de photo-bioreacteurs. généralement le photobio-réacteur présentent des avantages et des inconvénients , le PBR plat est meilleur de point de vue de pénétration de la lumière et il n'a pas le problème accumulation d'oxygène mais présente la demande d'espace à échelle industriel. Par contre au niveau de PBR tubulaire on a grande accumulation d'oxygène et d'autres gaz qui provoque le stresse de culture (stresse oxydatif) mais il est réalisable au grand échelle, dans ce travail l'agitation est assurée par simple barbotage qui considéré

comme une avantage , le PBR annulaire rassemble les avantages et évité les inconvénients des PBR ,facilement réaliser , simple barbotage, et a basse cout.

Les objectifs de ce mémoire on a étudié l'effet de lumière et l'épaisseur de PBR annulaire sur la croissance d'un microorganisme photosynthétique procaryote particulièrement (spiruline). la première partie présente une étude biologique et écologique sur la spiruline ,la seconde partie s'attache à présenter la photosynthèse et les photo-bioréacteurs existants (différentes géométries, principales caractéristiques). La troisième partie comporter les différentes matériels et méthodes utilisées, la dernière partie illustre les résultats obtenus et leurs interprétations.

Chapitre I

Généralités sur la spiruline

I. Généralités sur la spiruline :

Une cyanobactérie filamenteuse plus connue sous le nom de Spiruline, *Spirulina platensis*(ou *Arthrospira platensis*), Cette dernière a été utilisée traditionnellement depuis plusieurs de centaines d'années par certaines populations primitives d'Afrique et du Mexique [7].

I.1. Historique de la Spiruline :

On croit que les algues bleues étaient parmi les premiers êtres vivants sur la terre, Qu' 'il y'a environ 3,5 milliards d'années [8]. Les algues alimentaires spirulines connues et valorisées à ce jour sont : *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis*.

Toutes deux ont des origines différentes et ont été découvertes dans deux endroits très particuliers du globe. La première; *Spirulina maxima* est originaire du Mexique et était consommée par les Aztèques du lac Texaco avant la conquête espagnole. Les algues étaient récoltées à la surface du lac, séchées au soleil, puis cuites et consommées sous le nom de Tecuitlatl. Depuis 1968, elles sont cultivées près de Mexico dans des bassins semi-naturels d'évaporation de la société Sosa Texaco et sur des milieux synthétiques en Thaïlande et au Japon où deux, firmes les ont commercialisées, ainsi qu'aux Etats-Unis. La seconde espèce qui est celle qui nous intéresse se nome *Spirulina platensis*. Il s'agit aussi d'une espèce comestible qui fut découverte en 1964 par des membres d'une expédition scientifique basée au Tchad. Ces derniers ont en effet constatés que les Kanem bous du sud Kanem, écumaient la surface des mares aux environs du lac Tchad, mares riches en carbonates de sodium, à la recherche de la fameuse algue [9].

I.2. Etude biologique :

La spiruline situe à la frontière du monde bactérien et du monde végétal. Bactérie parce que appartenant au groupe des cyanobactéries, végétal parce que micro-algue puisant son énergie à la photosynthèse, et dépourvue de cellulose [10]

I .2.1. Définition :

La Spiruline est une cyanobactérie, anciennement désignée par le terme « Algue bleue » puis cyanophycée. Elle est classée parmi les bactéries gram négatives [11].La spiruline se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire bleu-vert, mobile, non ramifié et enroulé en spirale. Ce filament est appelé trichome, sa forme est hélicoïdale, observable uniquement en milieu liquide, est caractéristique du genre, c'est d'ailleurs de là, que la spiruline tient son nom [1]. L'espèce mexicaine *Spirulina maxima* se caractérise par des trichomes de 7 à 9µm de diamètre, de 70 à 80µm de long, légèrement effilés aux extrémités, formant une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60µm de diamètre. Les cellules constituantes des trichomes mesurent 5 à 7µm de long et ne rétrécissent pas au niveau des articulations.

L'espèce du Tchad *Spirulina platensis* se compose de trichomes atteignant 350µm de long, de 5 à 11µm de diamètre, un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50µm, diminuant légèrement vers les extrémités [12]

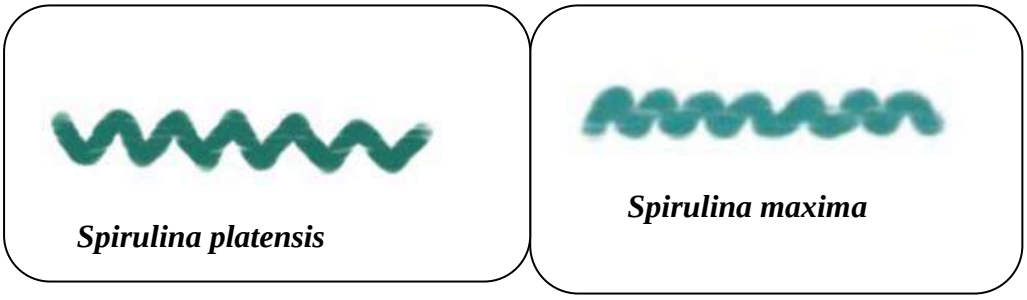


Figure I-1: Différentiation *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis :* Filaments de spiruline observes au microscope optique [12].

I .2.2.Les souches d'*Arthrospira platensis* :

Le terme Spiruline correspond au nom commercial d'une espèce de cyanobactérie alimentaire appartenant toujours au genre *Arthrospira*. Le mot Spirulina est le nom commercial anglophone de la spiruline, mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné de Arthrospira, et surtout non comestible par exemple :

(Spirulina major, Spirulina subtilissima, Spirulina princeps, Spirulina giganteaou Spirulina subsalsa) [12].

Tableau I. 1: Les diverses appellations de la spiruline [10]

Spiruline	Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre *Arthrospira*
Spirulina	Nom commercial anglais de la même cyanobactérie.
Arthrospira	Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient notre spiruline alimentaire

L'analyse des caractéristiques génétiques de l'espèce *Arthaospira*, basées sur l'ARDA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), *l'Arthrospira platensis* montre une grande plasticité dans la morphologie. Ceci est attribué aux facteurs exogènes comme la température et d'autres facteurs physiques et chimiques et probablement aussi en raison du changement génétique [13]

En ce qui concerne les différentes souches (ou variétés) d'*Arthrospira platensis*, on distingue les souches "spiralées", "ondulées", et "droites" **Figure I-2**

- les souches « spiralées », désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la « Lonar » (Inde)

- les souches « ondulées », le terme « ondulées » désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la « Paracas » (Pérou)

- les souches « droites », le terme « droites » désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes

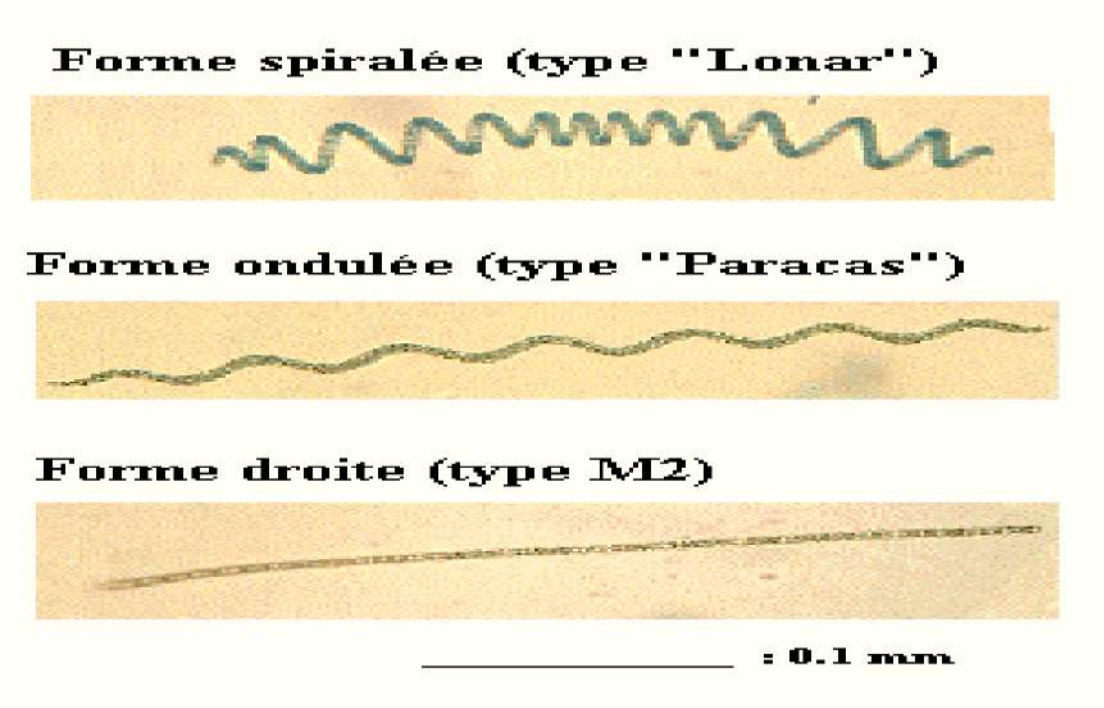


Figure I-2. Morphologies typiques des *Arthrospira*.

I .2.3.Taxonomie :

selon la classification dans le Manuel de Bergey de Bactériologie Determinative", la spiruline (Arthrospira) appartient au groupe des cyanobactéries [14] [15], Le tableau ci-apres synthetise la taxonomie d'*Arthrospira platensis* (**Tableau I. 2**).

Tableau I .2 :Taxonomie recapitulative [1] [16] [17] [18]

Regne	Monera ou Bacteria
Sous-regne	Prokaryota
Phylum ou Division	Cyanophyta ou Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	*Arthrospira*
Espece	*platensis*

I .2.4.Toxicologie :

La Spiruline n'est pas toxique car elle n'a pas les gènes qui assurent la synthèse des toxines de cyanobactéries [19], Par contre, de nombreuses autres cyanobactéries sont toxiques mais le milieu très alcalin dans lequel pousse la Spiruline, Le haut pH et de l'alcalinité du milieu de culture inhibe la croissance d'organismes potentiellement contaminants, et ne leur permet pas de se développer ce qui entraîne une monoculture virtuel de *Arthrospira platensis*, ainsi qu'aucun cas avéré d'intoxication par la Spiruline n'a été rapporté [13]

I .2.5.Reproduction :

La reproduction est vegétative, c'est a dire asexuee et s'effectue par scission simple ou multiple [20]. Le cycle biologique de la Spiruline selon Ceferri et al (1983) [22]. (Fig.3) : un filament en maturité forme des cellules spéciales appelées nécridies, au niveau de ces cellules le trichome se fragmente pour donner naissance à de nouveaux individus de courtes chaînes (2 à 4 cellules) appelées hormogonies. Par division binaire des cellules, les hormogonies croissent en longueur et prennent la forme typiquement hélicoïdale. Dans les conditions expérimentales, le temps de génération maximal de la Spiruline est voisin de 7 heures [21].

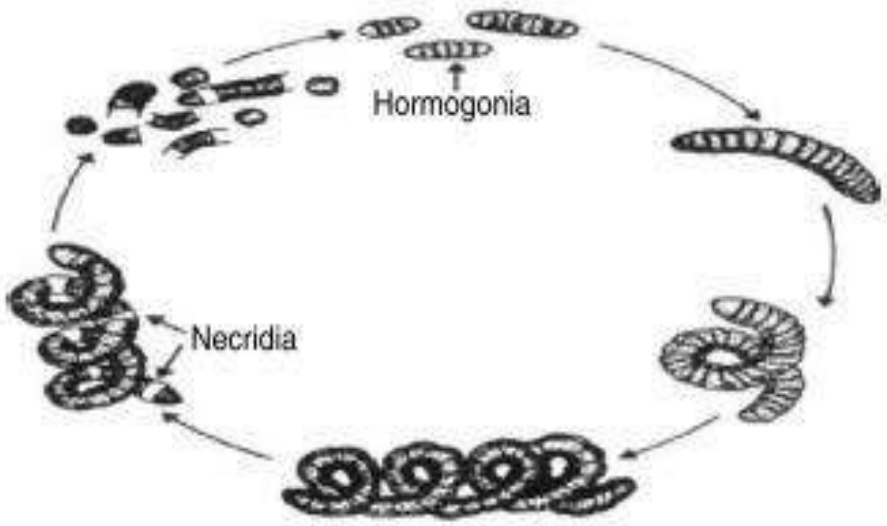


Figure I-3 : Cycle biologique de la Spiruline [22].

I. 2.6.Composition chimique de la spiruline

I .2.6.1.Protéines :

La biomasse de la spiruline contient une teneur en protéines élevée. Elle représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche [23].

I .2.6.2.Glucides :

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines. L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9.7%) ou encore de glycogène (0.5%) [22].

I .2.6.3.Lipides :

La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés. La composition des principaux acides gras révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels, incluant des oméga-3 et des oméga-6 qui préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme [24].

I .2.6.4.Vitamines :

La Spiruline est une algue vitaminée, elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière. Il contient aussi une concentration relativement élevée en provitamine A, vitamine B 12 et β-carotène [1].

I .2.6.5.Minéraux et Oligoéléments :

Les minéraux les plus intéressants chez la spiruline sont le calcium, le magnésium, le phosphore et le potassium. Les trois premiers minéraux cités sont présents dans la spiruline à des teneurs comparables à celles trouvées dans le lait. Les oligo-éléments présentant le plus d'intérêts dans la spiruline sont le fer, zinc, le sélénium [1].

I. *2.6.6. Pigments :*

La spiruline est riche en pigments responsables de sa couleur. Les principaux pigments sont la phycocyanine et la chlorophylle

La phycocyanine est une phycobiliproteine. Seul colorant bleu alimentaire naturel, elle est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue [25] [26].

La chlorophylle est presente en proportion de 9-15 g/kg [27].

I. 2.7.Les Multiples usages de la spiruline:

I .2.7.1. Approche nutritionnelle :

La spiruline est connue pour sa richesse en protéines, qui constituent entre 50 et 70% de son poids sec. Ces protéines ont en plus l'avantage d'être facilement assimilable par l'organisme, ce qui évite l'emploi de la cuisson qui altère les nutriments et les vitamines. Les acides aminés essentiels représentent 47% du pois total des protéines [28].

La digestibilité de la spiruline est en plus accrue par l'absence de paroi cellulosique dans la cellule, remplacée par une enveloppe de muréine fragile.

L'efficacité protéique (PER) d'un aliment est déterminé par le rapport « Gain de poids de l'animal ou de l'individu / poids de protéines ingérées ». La protéine de référence est souvent le lactalbumine ou bien la caséine, laquelle présente un PER de 2.5. La

spiruline seule, au cours d'expériences menées sur le rat, a un PER de 1.90, tandis qu'accompagné de riz dans une proportion égale, cette valeur s'élève à 2.40 [29].

Les lipides totaux représentent 5.6 à 7% du poids sec de la spiruline, parfois jusqu'à 11% selon le système d'extraction utilisé. Ils se subdivisent en fraction saponifiable (83%) et en fraction insaponifiable (17%). Les acides gras font partie de la première fraction : l'acide β -linolénique en constitue 10 à 20% chez *Spirulina maxima* et jusqu'à 40% chez *Spirulina platensis*, soit jusqu'à 4% de son poids sec total [30].

La spiruline figure ainsi parmi les meilleures sources d'acide gras essentiel, avec quelques huiles végétales peu connues (huile d'onagre, de bourrache, de cassis).

Rappelons que ces acides sont des précurseurs des prostaglandines qui jouent le rôle de médiateurs chimiques dans les réactions inflammatoires et immunitaires. Une déficience prolongée en ces acides gras peut être à l'origine de thrombose, d'arthrite, d'accidents vasculaires cardiaques et cérébrales [31].Parmi les éléments minéraux contenus dans la spiruline, le fer est sans doute le plus parlant. Les carences en fer à l'origine de l'anémie sont très répandues, surtout chez les femmes enceintes et les enfants, et lorsque les bonnes sources alimentaires de fer sont rares. Les céréales complètes, classées parmi les meilleures sources de fer, n'en contiennent que 150 à 250mg par kg. En plus, elles sont riches en acides phytique et en polymères phosphatés qui limitent fortement la biodisponibilité de leur fer. D'autre part, les suppléments sous forme de sulfate ferreux deviennent toxiques à forte dose et causent quelque fois des diarrhées.

Dans le cas de la spiruline, la biodisponibilité du fer a été démontrée tant chez le rat que chez l'homme [32].

I .2.7.2. Approche thérapeutique :

On serait tenté d'affecter à la spiruline une image de potion magique, tellement ses propriétés médicales sont variées. Ce n'est pas moins un remède contre de nombreuses pathologies. Nous ne citerons ici que quelques unes de ces propriétés. Après plusieurs années de recherche pour essayer de comprendre l'origine du cancer, il transparaît aujourd'hui comme étant le résultat d'un processus qui aboutit à la formation de radicaux libres dans l'organisme, suite à l'influence de différents facteurs tels que le stress physique et émotionnel, la pollution, etc. Ces radicaux libres

peuvent endommager l'ADN, les protéines structurales, les enzymes et les membranes cellulaires et conduire à la formation de produits toxiques – et à terme au cancer. Pour éliminer ces radicaux libres, notre organisme a besoin d'apports en vitamines anti-oxydantes, caroténoïdes et autres micro-nutriments. Le β -carotène, présent en quantité très importante dans la spiruline, est l'un des principaux caroténoïdes impliqués dans ce système de défense de l'organisme [33].

la phycocyanine de la spiruline sont aussi connus pour leur effet immunostimulant.

Le diabète résulte de troubles au niveau des taux sanguins d'insuline - hormone pancréatique qui permet de transformer le sucre présent dans le sang en énergie.

Le diabète type 1 survient à un âge jeune résulte d'un manque d'insuline. Le diabète type 2 dit non insulino-dépendan (NIDDM) survenant à l'âge adulte résulte de l'i ncapacité de l'organisme à fabriquer l'hormone de manière efficace [34].C'est le type le plus répandu. Il a été prouvé que la spiruline agit sur ce type de diabète en réduisant le taux sanguin de sucre et de cholestérol. L'ingestion quotidienne de spiruline est recommandée pour le contrôle du taux glyco-lipidique chez les diabétiques [35].

La phycocyanine est aussi utilisée en imagerie médicale comme traceur fluorescent. Une fois purifiée, elle coûte entre 8000 et 40000$ le gramme. Ce prix est justifié par la netteté d'image obtenue même sans utiliser de marqueur radioactif [36].

I .2.7.3.Aquaculture et aquariophilie :

La spiruline n'est pas exclusivement réservée à la consommation humaine. En aquaculture, elle sert notamment à enrichir les granulés pour poissons [37].Sa présence dans l'alimentation des poissons a des effets que les éleveurs recherchent et apprécient. En aquariophilie, sa première application concerne la pigmentation qu'elle induit chez les poissons par sa richesse en caroténoïdes Au Japon, ses qualités de pigmentation lui ont valu d'être employé pour la coloration des poissons servant à préparer le sushi, mais aussi des crustacés. D'autre part, sa richesse naturelle en nutriments en fait un complément alimentaire bénéfique pour les poissons tropicaux d'aquarium [38].

I.3. Etude écologique :

I .3.1 .Culture de la spiruline :

Ce qui distingue le genre Arthrospira des autres cyanobactéries, c'est le milieu naturel où elles vivent. En effet, la Spiruline est un organisme ubiquiste et est thermophile, elle a été trouvée dans des milieux ayant une concentration de 8,5 à 270 grammes de sel par litre [39] , qui sont riches en carbonate de sodium (Na2CO3), bicarbonate de sodium (NaHCO3), divers minéraux et des source d'azote fixé. La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes tropicales du monde entier, principalement, dans les lacs alcalins d'Afrique autour du Tchad (*Arthrospira platensis*) et d'Amérique dans la vallée de Texcoco au Mexique (*Arthrospira geitleri ou Arthrospira maxima*) [40] Elle a des conditions environnementales très contraignantes qui excluent la plupart des autres êtres vivants.

I .3.2. Distribution géographique :

A l'état naturel, la spiruline est retrouvée dans des lacs de la ceinture intertropicale du globe terrestre. Ces lacs sont situés approximativement entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud ; ils sont peu profonds et agités par des vents légers. En dehors des sites cités dans l'annexe.1, d'autres endroits sont possibles , notamment partout où vivent le flamant nain (Afrique et Asie) et le flamant de James, *Phoenicoparrus jamesi* (Amérique du sud) [1] Annex1.

I .3.3 .Milieu et conditions de croissance :

Pour se développer, la cyanobacterie a besoin de lumière, d'une eau alcaline, avec un pH allant de 8,5 a 11 (pH optimum = 9,5), riche en azote et en carbone, et d'une température comprise en 25 et 40°C Elle est produite dans des bassins, dans une eau peu profonde, brasse en permanence pour assurer une répartition régulier des éléments nutritifs. Une intensité lumineuse élevée sans agitation conduirait à la photolyse des micro-algues. Une forte intensité lumineuse conjuguée avec une forte agitation
Donnera la croissance optimale. A l'inverse, en lumière et agitation faibles, la croissance sera lente, mais la pigmentation plus marquée, c'est-a-dire que la couleur sera d'un vert plus fonce et le bleu de la phycocyanine apparaitra [12].

La spiruline est cultivée sur plusieurs milieux, le milieu natural composé des résudus végitales et des déchéts animals à l'echelle artisanale [41], et des milieux synthétiques comme le milieu ZARROUK et milieu BGr11 Annexe 4 [12].

Chapitre II
La photosynthése et le photobioréacteur

II.1. Généralités sur les microorganismes photosynthétiques :

Les microorganismes photosynthétiques sont des organismes unicellulaires, croissant ,en milieu aqueux et ayant la capacité de convertir l'énergie lumineuse par photosynthèse. Ce sont des organismes photo-autotrophes, ils utilisent une source de carbone inorganique et une source de lumière pour se développer. Ce groupe comprend les bactéries photosynthétiques et les micro-algues. Alors que les micro-algues sont des organismes eucaryotes, les bactéries photosynthétiques sont des organismes procaryotes, ne possédant pas de noyau ni d'autres organites compartimentés. [42-43].

Il existe plusieurs façons de cultiver de microorganismes photosynthétiques, selon les applications souhaitées. Premièrement, deux modes de cultures sont à distinguer :

l'autotrophie et l'hétérotrophie. L'autotrophie consiste en l'apport d'une source de carbone inorganique tandis que l'hétérotrophie utilise une source de carbone organique. Lorsque les deux sources sont mélangées, on parle alors de mixotrophie.

Les microorganismes sont cultivés dans des réacteurs, dont la géométrie dépend également de l'application visée. Deux grandes familles sont à distinguer : les réacteurs ouverts et les réacteurs fermés (PBR) [44].

II.1.1. La photosynthèse :

La photosynthèse est le processus par lequel les micro-algues 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 **Figure (II.1).**

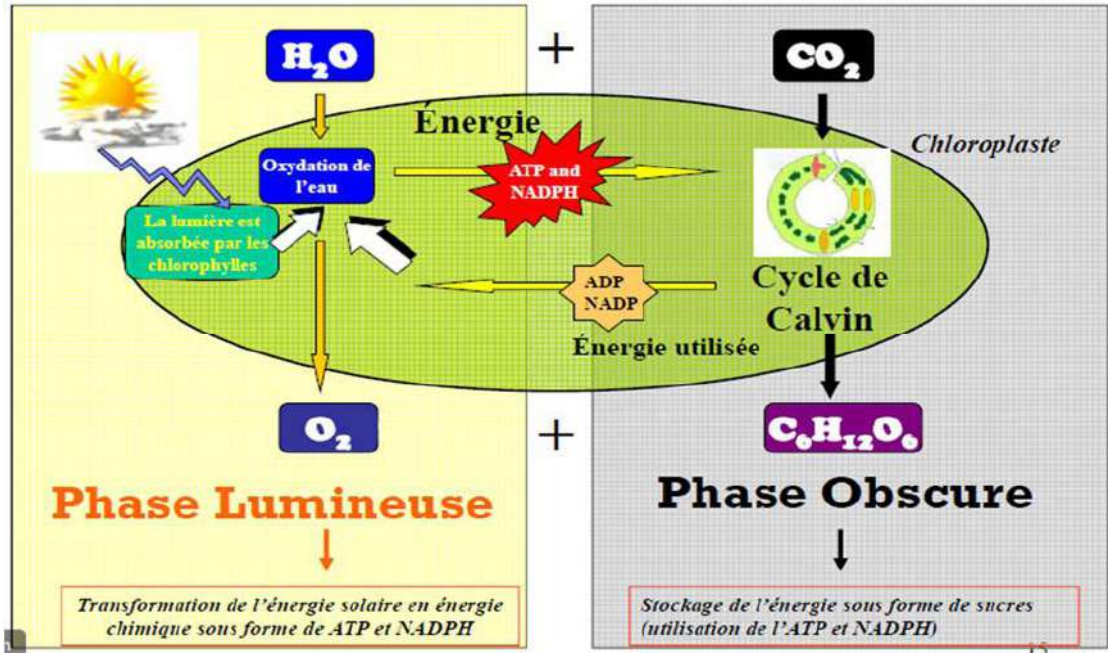


Figure II.1: les deux types réactions de photosynthèse [45].

Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques.

Le processus photosynthétique dans son ensemble peut être décrit par l'équation globale [46] :

$$nCO_2 + 2nH_2O + \text{lumière} \xrightarrow{\text{Chlorophylle a}} [CH_2O]_n + H_2O + O_2 \ldots\ldots \quad \textbf{(1)}$$

Pour se faire la photosynthèse se réalise en deux grandes phases, la phase claire et la phase sombre **Figure(II.2)**.

La phase claire :

C'est une ensemble de réactions photochimiques, qui dépendent de la lumière, et au cours desquels les électrons sont transportés à travers les deux photosystèmes (PSI et PSII) afin de produire de l'ATP (molécule riche en énergie) et du $NADPH^+H^+$ (potentiel réducteur).

La phase claire permet donc directement la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique.

La phase sombre :

Correspond au cycle de Calvin, entièrement enzymatique et indépendante de la lumière, au cours duquel l'ATP et le NADPH $^{+}H^{+}$ sont utilisés pour la conversion du dioxyde de carbone et de l'eau en glucides.

Cette Seconde partie permet l'assimilation du gaz carbonique

.

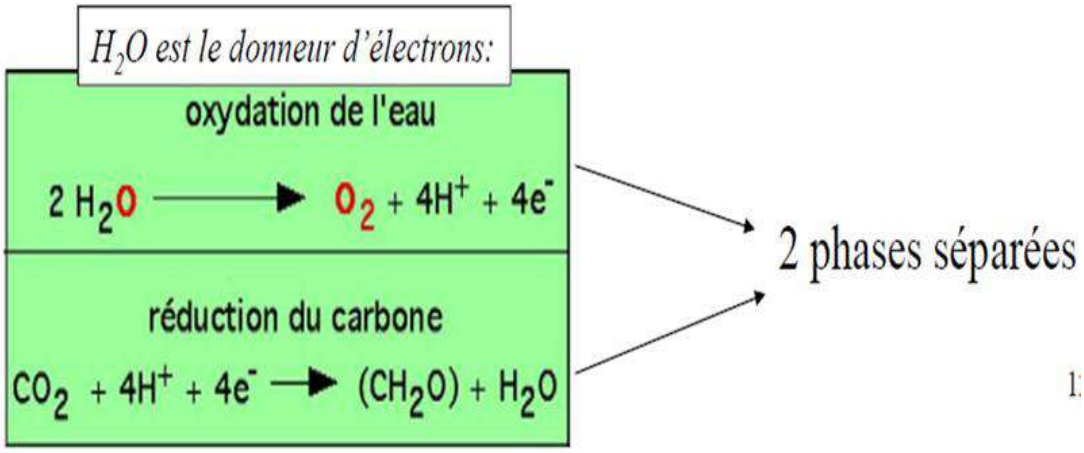


Figure II.2 : deux phases de photosynthèse.

II.1.2.. Fonctionnement du mécanisme photosynthétique :

Le siège de la photosynthèse est dans les thylakoïdes. L'énergie lumineuse incidente est captée par les pigments et transférée aux photosystèmes. Il existe deux types de photosystèmes, travaillant en série mais à des niveaux d'énergie différents :

Le photosystème II (PSII) fonctionnant à 680nm et le photosystème I (PSI) fonctionnant à 700nm.

Ils sont exprimés ici en équivalent de longueurs d'ondes, selon le pic d'absorption des pigments les composant : la chlorophylle a au PSI. **Figure (II.3**)

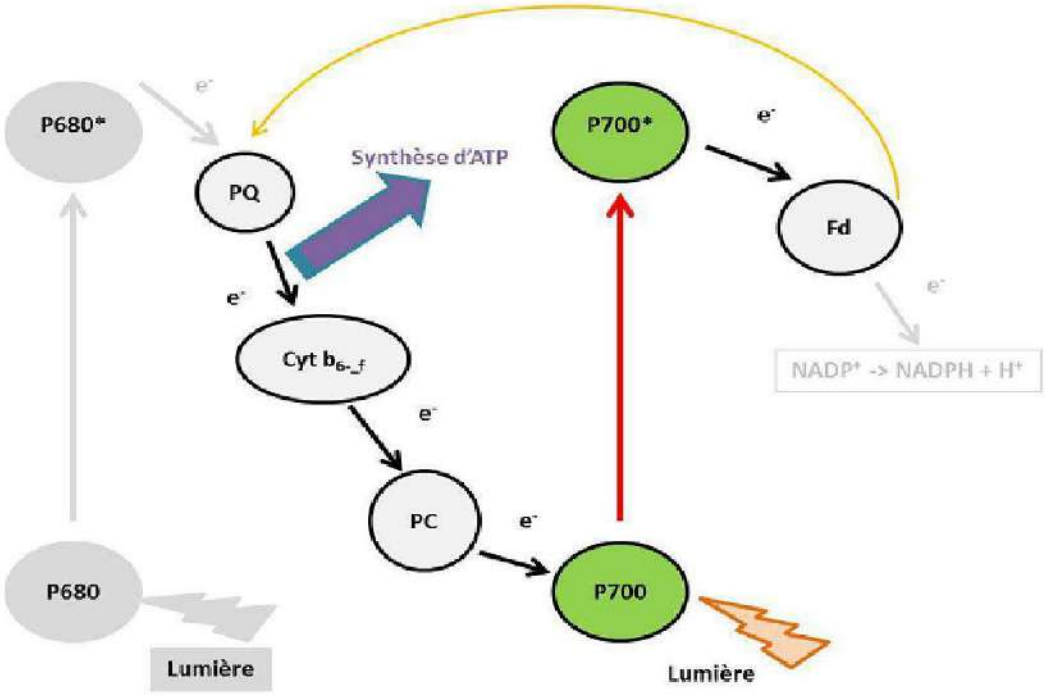


Figure II.3: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ :plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 photosystème I, Fd : ferrédoxine [47]

Les photosystèmes se trouvent dans la membrane des thylakoïdes, à l'interface du lumen et du stroma .l'énergie collectée est ensuite transformée en énergie chimique, puis utilisée pour transformer du carbone inorganique (dioxyde de carbone, CO2) en molécules carbonées du type glucide.

La photosynthèse peut être séparée en deux types de réactions:

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

_ Les réactions sombres (Cycle de Calvin), dans la cellule CO_2 va être intégré au cycle de Calvin, au niveau du chloroplaste. De ce processus va résulter la synthèse de matière organique.

Cette réaction peut s'écrire:

$n\ Co_2 + 2\ NADPH + 2H^+ + 3ATP \longrightarrow (CH_2\ O)\ n + H_2o + 2NADP^+ + 3ADP + 3P_i \ldots (2)$

C'est l'enzyme Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) qui va catalyser cette réaction de carboxylation. CO2 réagit avec le Ribulose-1,5 biphosphate pour donner le glycéraldéhyde 3phosphate. Cette réaction nécessite un apport d'énergie sous forme d'ATP et de NADPH. Le cycle de Calvin va consommer 95% du NADPH et plus de 60% de l'ATP générés lors de la phase photochimique [32]. Les 5/6 du glycéraldéhyde 3-phosphate vont être utilisés pour fournir le cycle en Ribulose- 1,5-biphosphate et le 1/6 restant est exporté dans le cytoplasme de la cellule pour servir à la synthèse de molécules organique **Figure (II.4)**.

Ces molécules organiques sont essentiellement des glucides et en faible proportion des acides organiques et acides aminés. Ces différentes molécules seront utilisées par la cellule pour la synthèse de nouveau

La fixation du CO2 ne nécessite pas directement de lumière pour avoir lieu, c'est pourquoi elle est aussi appelé réaction sombre. Cependant de par sa dépendance énergétique aux produits de la photosynthèse, elle reste intimement liée à celle-ci. Bien que 95% du carbone organique des microalgues soit fixé par la Rubisco, il existe une autre voie de fixation du carbone appelée β-carboxylation [48]. donnant la forme oxydée du NADPH;H+, le NADP+ et de l'Adénosine Di-Phosphate (ADP).

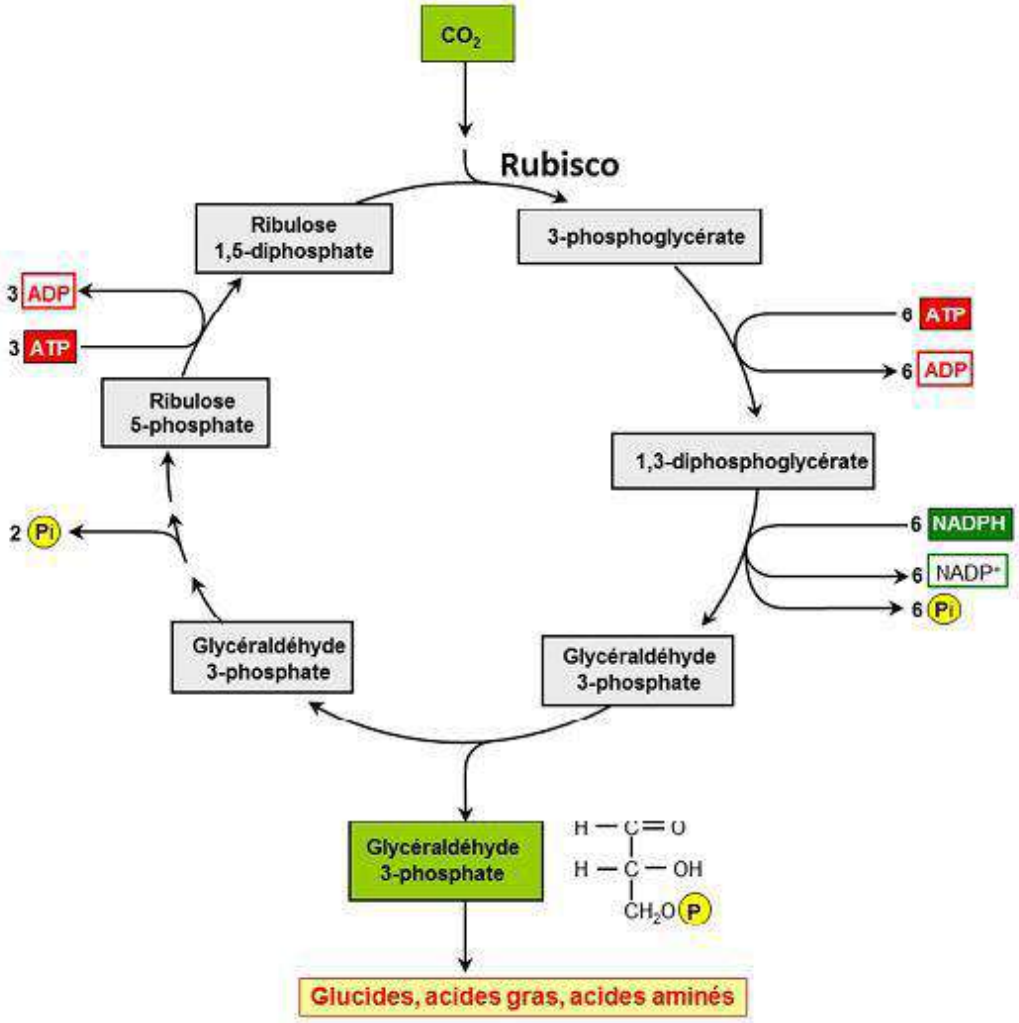


Figure II.4 : Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3- phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté [39].

II- 2 Généralités sur les photo-bioréacteurs :

Les photo-bioréacteurs sont de natures très variées, depuis les bassins à ciel ouvert, jusqu'aux systèmes clos. Ils diffèrent par de nombreux aspects portant notamment sur leur géométrie et les conditions de culture, le mode de confinement, la lumière, le mélange, le contrôle thermique, les transferts de gaz, et les conditions d'exploitation. [49]. les photo-bioréacteurs clos sont isolés de l'environnement extérieur. Toute entrée ou sortie peut être de plus stérilisée de manière à garder la culture [51].

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

Un photo-bioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de micro algues, de CO2 et de lumière [51].

La notion de photo--bioréacteur date déjà de quelques décennies. Les premiers systèmes clos sont apparus à la fin des années 40, mais faute de moyens techniques leur développement a été interrompu et les cultures ont continué à être réalisées en bassins rudimentaires. Dans les années 80, les recherches ont repris activement et de nombreux photo-bioréacteurs ont été réalisés et expérimentés avec des formes géométriques diverses [52].

II.2.2.Caractéristique des principaux types de photo-bioréacteurs :

II.2.2.1 Eclairage :

L'éclairage des photo-bioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiance solaire [53].

La particularité d'un photo-bioréacteur tient, en plus des besoins habituels

Communs à tous les bioréacteurs, à la nécessité de fournir une énergie photonique aux microorganismes à cultiver (les micro-algues), cet apport étant incontournable pour la réalisation de la photosynthèse.

La croissance des microorganismes (micro-algues), et donc la production de biomasse, dépend de la quantité de lumière reçue par chaque micro-algue. Deux facteurs sont à distinguer :

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

-d'autre part, la quantité et la qualité de la lumière réellement disponible pour les micro-algues au sein du photo-bioréacteur : celle-ci étant différente du flux lumineux incident du fait des pertes par absorption et diffusion qui ont lieu en traversant la culture et les parois du réacteur.

La distribution hétérogène de l'irradiance selon l'épaisseur de la culture conduit à des cinétiques locales de croissance en surface, du fait d'une intensité lumineuse trop forte, une zone de photo-inhibition peut apparaître et entraîner la dégradation des photosystèmes I et II (PSI et PSII) des antennes collectrices de la chlorophylle a et l'apparition de pigments accessoires, en profondeur, des effets d'auto-ombrage peuvent conduire à une photo-alimentation avec un manque d'énergie ou même à un basculement vers un mécanisme respiratoire **Figure (II.5)** [54].

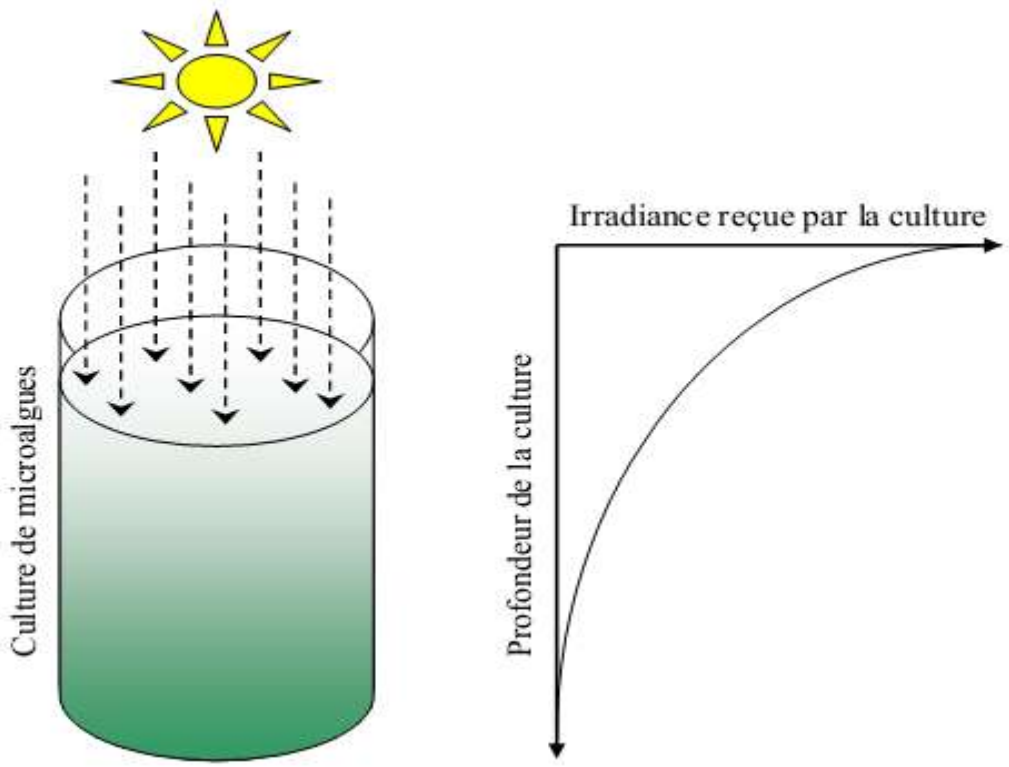


Figure II.5: Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de micro-algues [52].

II.2.2.2 Régulation :

Une régulation est mise en place afin d'assurer une optimisation des cultures. Le minimum requis pour un photo-bioréacteur industriel est le contrôle des conditions de culture à savoir le pH et la température.

En laboratoire la régulation peut s'avérer plus poussée et des périphériques sont alors ajoutés pour permettre un suivi expérimental [55]

Contrôle du pH :

Le réajustement et la régulation du pH de la culture sont majoritairement obtenus à l'aide de CO_2 distribué conjointement à de l'air ou bien séparément [56] [57] , quel que soit le système d'agitation. A noter que l'aération et le mélange du milieu de culture en scobalits (photo-bioréacteur à colonne) s'effectuent par un bullage simple d'air enrichi entre 2 et 5% de CO_2.

Contrôle de température :

La régulation thermique peut se faire également en immergeant le photobioréacteur dans un bassin rempli d'eau [58] ou encore en aménageant autour de lui un système d'ombrage [59]

II.2.3. Les deux formes géométriques de PBR :

Abordons en premier la géométrie du photo-bioréacteur car c'est de ce critère que dépend principalement la problématique de l'accès à la lumière.

Au regard de la littérature, deux familles de photo-bioréacteurs se dégagent au point de vue géométrique :

les photo-bioréacteurs plats (géométrie plane) et les photo-bioréacteurs tubulaires (géométrie cylindrique). Pour chacune de ces deux familles des variantes existent, liées à des besoins spécifiques.

Dans les paragraphes suivants, un bilan des principales caractéristiques de ces photo-bioréacteurs sera dressé : géométrie, dimensions, volumes, épaisseur de la culture, système d'éclairage et type de mise en circulation utilisé pour la culture [52].

II .2.3.1 Les photo-bioréacteurs plats :

Conçus par analogie au panneau photovoltaïque et formés par l'agencement de deux panneaux parallèles de forme rectangulaire entre lesquels circule une mince couche de culture d'une épaisseur de quelques centimètres (1 à 10 cm), orientables, avec une inclinaison ajustable.

Ils ont la particularité de présenter un ratio surface sur volume important et une bonne qualité de transfert gazeux ce qui se traduit par un fort rendement photosynthétique .Pourtant, les limitations sont nombreuses et concernent essentiellement l'augmentation des coûts de production suite à la récarbonatation des cultures après l'augmentation du pH et des phénomènes de colmatage **Figure (II.6)**.

De plus, le faible ratio entre surface de refroidissement et surface exposée à la source lumineuse peut induire un mauvais contrôle de la température aussi, la présence de zones à faible mélange (coins) affecte les rendements [56].

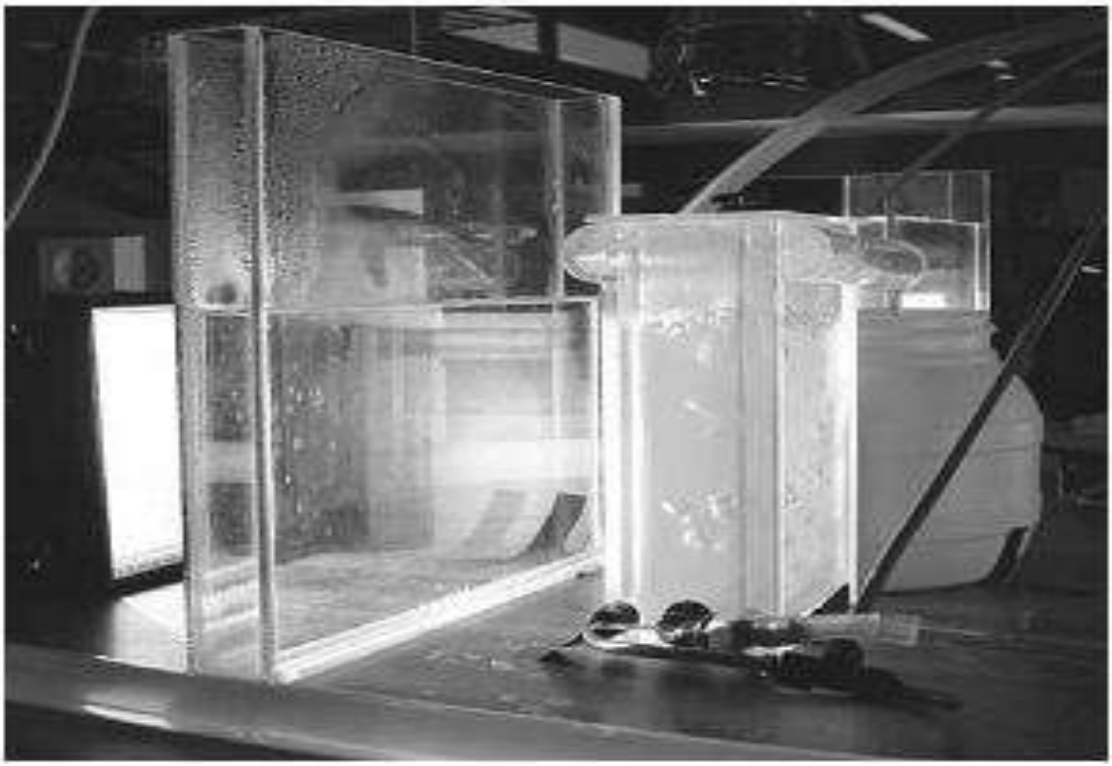


Figure II.6 : Géométrie du photo-bioréacteur plat [56]

II .2.3.2. Les photo-bioréacteurs cylindriques :

Considérés par plusieurs auteurs comme étant les plus adéquats pour la culture micro-algale, car ils se prêtent bien aux contraintes des photo-bioréacteurs (courbure exposée favorable à la surface éclairée).

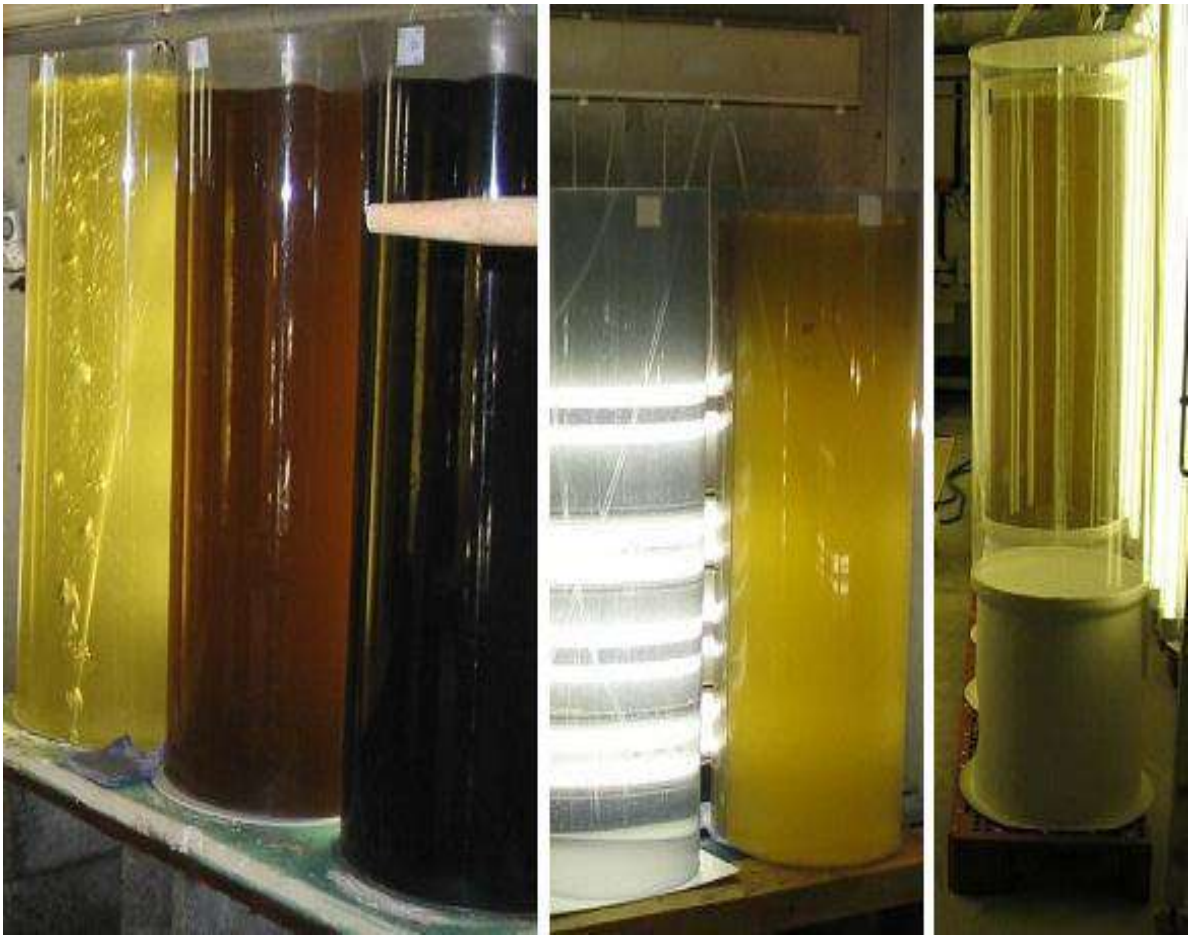
On les distingue par leur structure en tubes transparents (verre ou matière plastique) dressés en réseau, organisés de façon horizontale, verticale, inclinée, conique et serpentine et disposés sur des surfaces environnantes peintes en blanc afin d'augmenter la réluctance .Les cultures y sont conduites par circulation en boucle et vont passer alternativement dans la tubulure transparente où elles capteront la lumière et dans une tour de dégazage où elles devront impérativement perdre leur oxygène pour éviter une inhibition de la Photosynthèse [60].

II .2.3. 2.1. Les photo-bioréacteurs de type colonne :

Le photo-bioréacteur cylindrique de type « scobalit » est un système classique qui est très répandu dans l'aquaculture française.

Ce photo-bioréacteur se compose d'une colonne verticale, dont la dimension varie tant en hauteur qu'en diamètre.

En général, les dispositifs utilisés dans les écloseries font 2 m de haut pour environ 30-50 cm de diamètre **Figure (II.7**) et sont éclairés latéralement par des tubes fluorescents [61].



FigureII.7:Photobioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en écloserie[61].

II.2.3.2.2. Les photo-bioréacteurs de type annulaire :

Les photo-bioréacteurs annulaires sont des photo-bioréacteurs cylindriques agencés d'une manière particulière : ils sont fabriqués à partir de deux tubes de diamètres différents emboîtés l'un dans l'autre pour constituer ainsi un espace annulaire dans lequel circule la culture les avantages de ce PBR dégagement facile de O_2 ,une bonne pénétration de la lumière et construit à grande échelle possible les inconvénients :formation des bio- filmes. **Figure(II.8**).



Figure II.8 : Photo-bioréacteurs annulaires verticaux [59]

II.2.3.2.3 : Les photo-bioréacteurs tubulaire agencé horizontalement :

La configuration tubulaire se présente sous forme de boucles, ou serpentins, qui laissent passer la lumière entre les interstices des boucles **Figure(II. 9)** [62].

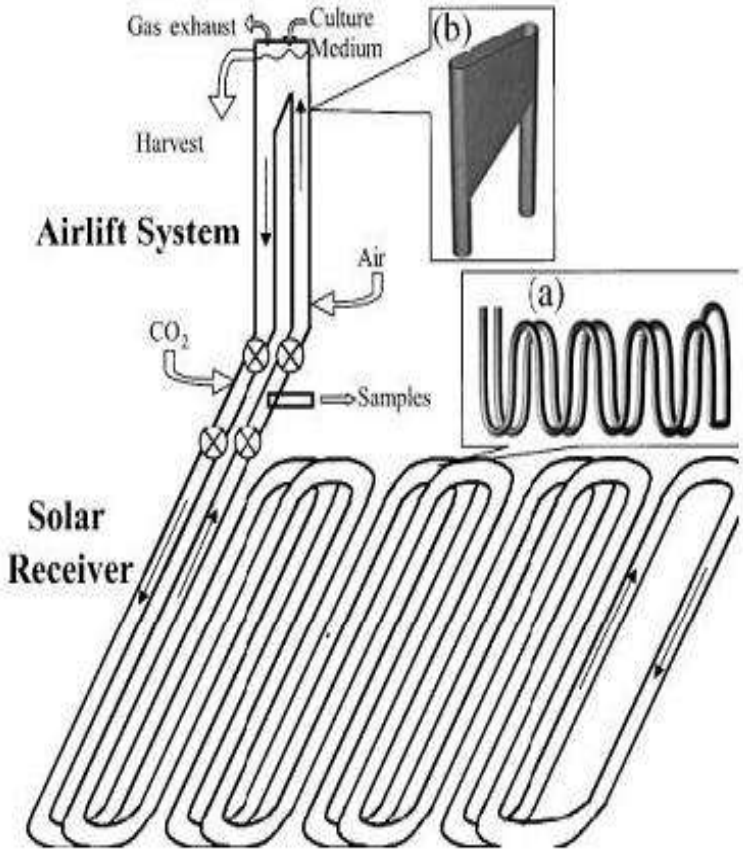


Figure II.9: Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage(b) [62].

II.2.3.2.4. Les photo-bioréacteurs tubulaires agencés verticalement :

Les photo-bioréacteurs tubulaires qui utilisent l'énergie solaire nécessitent de grandes surfaces au sol. Afin de restreindre cet encombrement, des photobioréacteurs à structure verticale ont été conçus : ils utilisent généralement des tubes de diamètre relativement faible (inférieur à 200mm).

Le photo-bioréacteur « Biocoil » est un photo-bioréacteur tubulaire dont les tubes sont enroulés autour d'une structure verticale**Figure (II-10**), ce qui offre l'avantage de pouvoir utiliser une grande longueur de tube (donc un grand volume de culture) tout en occupant une surface réduite [58].



Figure II.**10**: Photobioréacteur « Biocoil » inventé par LeeRobinson [58].

Chapitre III

Matériels et méthods

III.Matérielet méthodes :

III .1.Matériel:

III.1.1.Matériel biologique:

Au cours de ce travail nous avons utilisé une souche de spiruline «Spirulinaplatensis». Elle a été fournie parla région de Tamanrasset au niveau de la Guelta du Palmier situé à 1824 m d'altitude (23°N, 5°E) dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination. La souche a été cultivée dans le milieu de culture Zarrouk, favorable à sa croissance.

III.1.2.Milieu de culture :

Le milieu de culture doit contenir tous les éléments nécessaires à la croissance dela spirulineGénéralement, le milieu utilisé est basé sur le milieu original de Zarrouk (1966) et qui esttypiquement composé d'eau, le carbonate/bicarbonate de sodium, une source d'azote, lephosphore, le fer et d'autres minéraux de trace [13].

L'eau utilisé peut apporter de façon naturelle les besoins de la spiruline pour se développer etlimite ainsi la quantité d'intrants nécessaire à sa croissance.

Le milieu de culture de la spiruline doit être apporté tous les éléments suivants [63] :

- Bicarbonate de sodium (NaHCO3): est la source d'alcalinité, qui peut aussi apportépar le natron ou l'eau de cendre
- le phosphore (P): est indispensable pour la photosynthèse, apporté par n'importequel Ortho phosphate soluble.
- L'azote : est un constituant important des acides aminés, qui apporté principalementpar l'azote minérale NaNO3 atmosphérique, et aussi l'urée.
- Le carbone(C) : c'est la nourriture principale de la spiruline, qui apportéPrincipalement par le gaz carbonique, et aussi le sucre.
- Les métaux : essentiellement le fer, le bore et le magnésium.

Tableau III.1 : Milieu de culture référence, le milieu Zarrouk [12].

COMPOSITION DU MILIEU DE BASE (en g/l de solution aqueuse)	
NaHCO3	16,8
K2HPO4	0,5
NaNO3	2,5
K2SO4	1
NaCl	1
MgSO4, 7 H2O	0,2
CaCl2	0,04
FeSO4, 7 H2O	0,01
EDTA (acide éthylènediamino tetracetique)	0.08

Achaque litre de la composition, on a ajouté 1 ml de chacune des solutions d'oligoéléments A5 et B6.

Tableau III. 2: composition de la solution A_5 (g /l) [12]

Elément chimique en mg/l	
NH4VO3	22.9
K2Cr2(SO4)4, 24 H2O	96.0
NiSO4, 7 H2O	47.8
Na2WO4, 2 H2O	17.9
Ti2(SO4)3	40.0
Co(NO3)2, 6 H2O	44.0

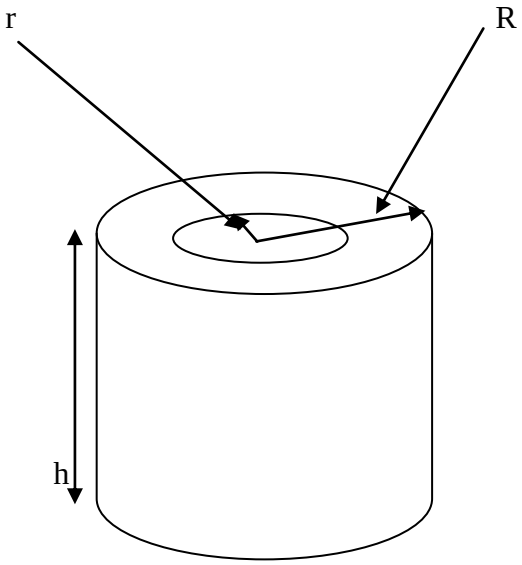
Tableau III.3 : composition de la solution B_6en (mg/l) [12].

Eléments chimique en g/l	
H3BO3	2.86
MnCl2, 4 H2O	1.81
ZnSO4, 7 H2O	0.22
CuSO4, 5 H2O	0.08
MoO3	0.015

III.1.3. Conception de réacteur annulaire:

La structure du PBR est constituéepar un bécher de 1L, en met dans ce dernier un flacon de 250ml ,le bécher et le flacon formé uneanneau .cette anneau présente l'épaisseur de PBR la**Figure(III.1)**.

Le bécher à une hauteur h=14.7cm et de diamètre externe**2.R** de 11.5cm de diamètrea chaque expérience en change l'épaisseur de réacteur (l'espace entre le bécher et le flacon) les épaisseurs fixé pour l'étudie sont 1.25 ,1.75et2.25 cm.



FigureIII.1:schémas générale de la structure de PBRannulaire.

R : est le rayon de cylindre externe

r :est le rayon de cylindre interne

h : la hauteur de cylindre



FigureIII.2::photo- bioréacteur annulaire préparé au niveau de laboratoire.

III.1.4. Appareillage :

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

la spectrophotomètre (UV-1600PC Spectrophotomètre),luxmètre (EA31) thermomètre, la centrifugeuse(EBA 20), une étuve, et différentesverreries .

III .2. Les méthodes :

III.2.1. Comment conduire une culture ?

Les cultures de Spiruline sont réalisées au laboratoire de l'annexede Médéa,maintenues dans des conditions d'éclairement, de température et de débit d'airidentiques la**Figure(III.3)**. La culture de la souche de spiruline est menée

atempératureégale 34 °C. A l'aide d'une lampe fluorescente La souche estexposée à des intensités lumineusesdifférents. Un programme assure 12 h delumière et 12 h d'obscurité [21].



FigureIII.3: La culture de spiruline préparé au niveau de laboratoire.

La couleur de la culture de spiruline est un indicateur sur l'état des cultures. Dans les meilleurs conditions de croissance, la spiruline flotte à la surface et sa couleur est bleu vert foncé, et lorsque la culture d'algues décantent au fond et leurs couleurs sont jaunâtres, ce qui indique que la culture est stressée (photolyse) [8]Annex3.

III.2.2. Ensemencement :

- Démarrage d'une culture à partir d'une petite quantité de semence:

Pour démarrer avec une nouvelle culture, il n'est généralement pas possible de disposer d'une grande quantité de culture pour ensemencer.

il doit démarrer avec un gramme de spiruline concentré dans un volume de culture , si on veut travailler avec un volume important il s'agit de multiplier de volume de semence initiale, il est convenable de faire des cultures successives, si la concentration de culture est plus faible,il faut ombrer avec une agitation continue sinon la spiruline va s'agglomère [63].Ensemencement des cultures est réalise à partir de biomasse frais filtré des cultures précédente, la filtration est réalisée par des filtre waltman n° 4 de porosité 13 µ m.

III.2.3 Agitation :

L'agitation est nécessaire pour homogénéiser, favoriser l'élimination de l'oxygène et assurer une bonne répartition de l'éclairage dans la culture (quelques minutes (2-3) min chaque heure, au moins 4 fois par jour). Une agitation trop violente endommage la spiruline (fragments visibles au microscope) et provoque l'apparition de mousse. Le module proposé assure l'agitation continue de la culture par barbotage à l'air [64]. Le mode d'agitation assure par une pompe d'aire pour les bioréacteurs fermés.

III .2.4 : Mesure des paramètres cinétique de croissance :

Dans la proche expérimentale on a choisie trois facteurs ,l'épaisseur de PBR Annulaire ,l'intensité lumineuse et la Concentration de l'inoculum de dépareX_0 la combinaison de ces facteurs permet de tracé une série d'expériences sur le suivie des cinétiques de croissance ,la densité en fonction de concentration de biomasse en poids sec ,a la fin on a calculées les paramètres cinétiques tell queμ max ,la productivité PVet le taux de chlorophylle.ces dernies seront comparés à la fin avec celles obtenue de PBR cylindrique pour évalué l'efficacité de chacun .en basent sur l'étude précédent décries par(CHELLALI et MEDJBOUR 2013)[65].

On a utilisées les conditions optimale pour le PBR Cylindrique, I=5500 lux ,D=4cm.

Tableau III.4: Les paramètres expérimentaux sélectionnés pour l'étude.

La forme	**Cylindrique Annulaire**										
Epaisseur (cm)	**1.25**					**1.75**			**2.25**		
[c] g/l	**1**	**2.25**	**1**	**3**	**1**	**2.25**	**1**	**2.25**	**2.25**	**1**	**3**
La lumière (lux)	**1000**	**5500**	**10000**	**1000**	**5500**	**5500**	**1000**	**1000**	**5500**	**1000**	**5500**

a-La productivité : La productivité PV est un paramètre qui permet d'estimer et de comparer l'efficacité des différente PBR ,la formule de calculés est développé par l'équation suivante[13]:

$PV = (X_f – X_0)/(t_f- t_0)$……(3)

X_f **:** la concentration finale

X_0 : la concentration initiale

b-le taux de croissanceμ max :

la vitesse est un paramètre cinétique de croissance, permet de comparé est d'évaluer la production de biomasse pour différente espèces. Les valeurs de μmax sont détermine par l'équation (4)

$\mu \max = (\ln X_1 – \ln X_2) / (t_2 - t_1) \ln_2$ ……(4)

Tel que :

t_2 et t_1 : les temps de croissance

$\ln X_2$ et $\ln X_1$: fonction népérienne des concentration de biomasse

III .2 .5 Mesure de concentration:

La concentration des cultures est suivie par la mesure de la densité optique à 618 nm, unecourbe étalon est établie entre les valeurs des densités optiques et les concentration en poids sec des cultures.

Le poids sec des culture est détermines selon la méthode de vanshak (1982)[66]

Le calcule des poids sec pour chaque culture est obtenue de l 'équation de beerlambert

$DO = \text{Log } I_0/I = \varepsilon * L * C$……(5)

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

$DO = a*C + b$…… (6)

Avec: a= ε*l

Où:

-I : l'intensité de longueur d'onde transmise à travers une solution de concentrationCen (mol/l) dans le spectrophotomètre.

- **Io :** l'intensité de lumière transmise à travers le solvant pur.
- **ε**: Coefficient d'extinction moléculaire
- **C**: Concentration du corps absorbant dans la solution.
- **l** : longueur de la cuve (1 cm)en général.

III 2.6.1. La courbe d'étalonnage :

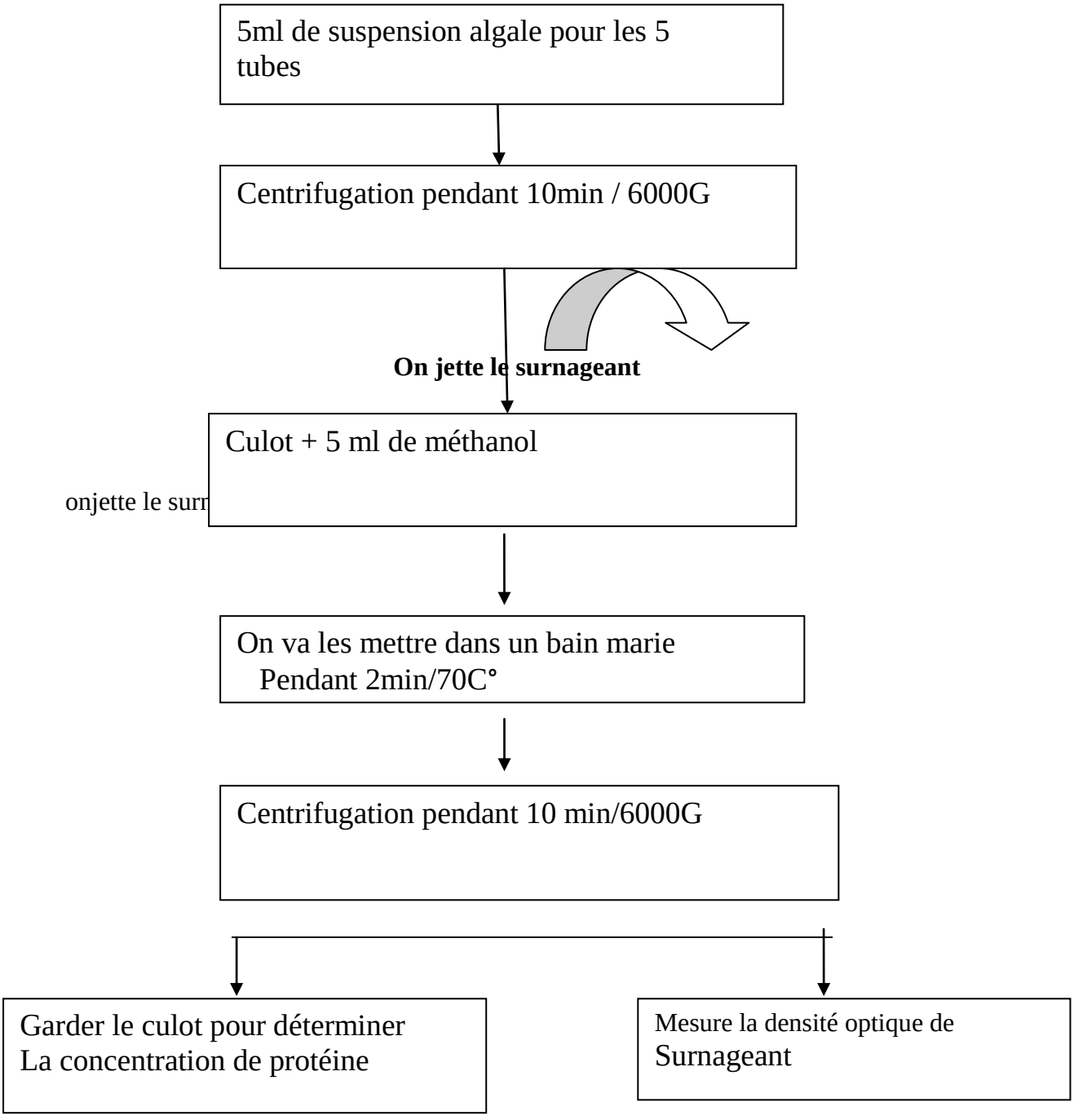
Le lien entre la densité optique et le poids sec de la spiruline, représente laconcentration cellulaire exprimée en g. L^{-1} est mesurée comme suit:

1. Des suspensions de 50 ml de culture à différentes concentrations sontpréparées puis filtrées à travers des filtres (Wattman) préalablementséchées dans l'étuve pendant 24 h à 70°C .Elles sont ensuite laissées pour refroidissement etdéshumidification dans le dessiccateur.
2. Chaque filtre est pesé (P0) et numéroté de 1 à 5.
3. Après filtration, on lave avec 20 ml d'eau acidifie (pH = 4) pour enlever tous les sels insolubles d'algue.
4. Les filtres sont mis dans des boites de pétri en verre puis dans l'étuve dans les mêmes conditions que précédemment.
5. Après refroidissement, elles sont pesées unedeuxième fois (P1).

Ps= (P1 - P0)/50……. (7)

III .2.7. Détermination de chlorophylle a :

Les teneurs en chlorophylle a est déterminées à la fin de croissance de culture par la méthode spectrophotométrie. Les étapes d'extraction et purification sont résumes dans l'organigramme suivant**[67]** :



FigureIII.4: Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle [67]

La densité optique de surnageant est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 665, 645 et 630 nm.

La quantité des chlorophylles a est calculée selon l'équation de (Hansmann, 1973).

[Chlo]= 11,6DO$_{665}$– 1.31DO$_{645}$ – 0.14DO$_{630}$ ……(8)

Chapitre IV

Résultats et Discussions

IV. Résultats et Discussions :

IV.1. L'effet des facteurs de milieu sur la production de biomasse :

La production de biomasse est influencée par plusieurs facteurs du milieu tel que la température, le pH, la source nutritionnelle (source d'azote et source de carbone) l'intensité lumineuse, la densité de culture, profondeur et les formes de PBR selon (Ripley D.FOX 1999). [12]

Dans notre étude, on a essaie de combine l'effet de concentration d'inoculum de départ $X_{0,}$ et l'intensité lumineuse sur la productivité volumique (PV) et le taux de croissance (μ_{max}). Les expériences sont réalisées sur différente épaisseurs de PBR et deux formes annulaire est cylindrique classique.

IV.1.1. La courbe d'étalonnage :

Le courbe d'étalonnage a été réalisé pour déterminer la concentration du culture de la Spiruline par simple lecture de la densité optique (DO).

Les résultats de cette étude sont donnés par dans la **figure (IV.1)** qui représente les Différentes densités optiques en fonction du poids sec (Ps) de la souche l'équation de la courbe d'étalonnage déterminé expérimentalement la suivante :

$$DO = 1{,}1482\ Ps + 0{,}0853 \quad \text{..... (9)}$$

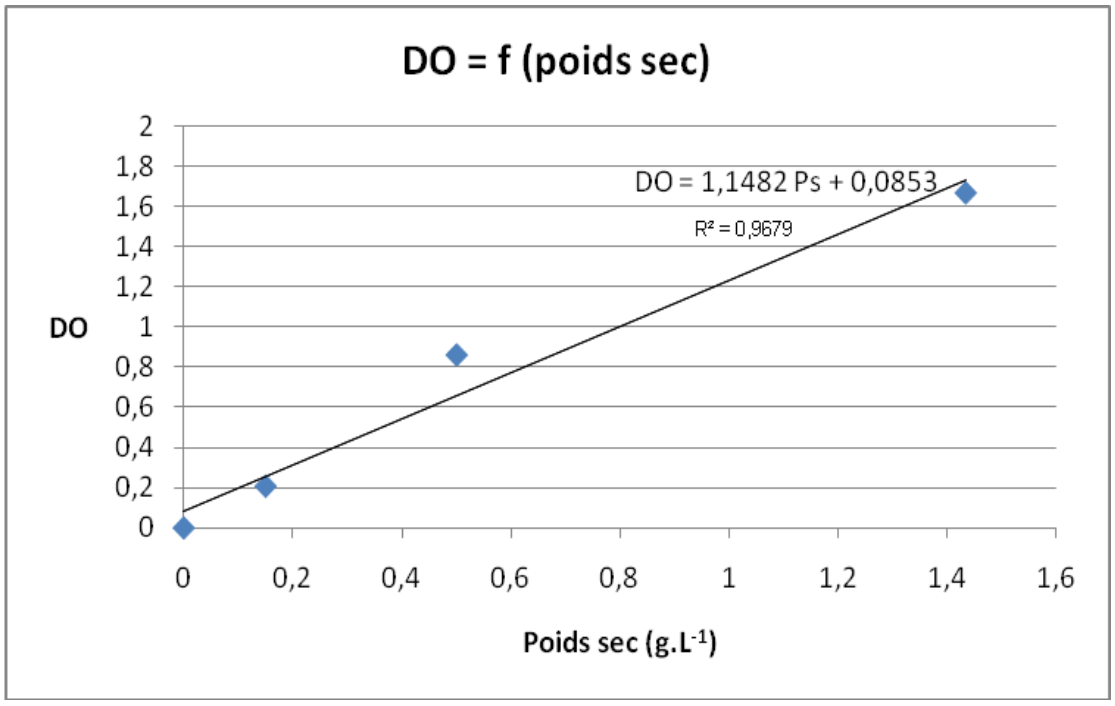


Figure IV.1. Courbe étalonnage qui relie la densité optique et le poids sec de la culture.

La courbe obtenue est un droite qui passe par un ordre 0,0858.les points obtenue présent une bonne linéarité avec R^2=0,9679.

IV.1.2. L'effet de l'intensité lumineuse sur PV et µ max dans le PBR à E=1,25 cm :

L'effet de l'intensité lumineuse sur PV et μ_{max} dans PBR d'épaisseur égale à E=1 ,25cm et à X_0=1g/l est illustré dans la **figure** (**IV.2**)

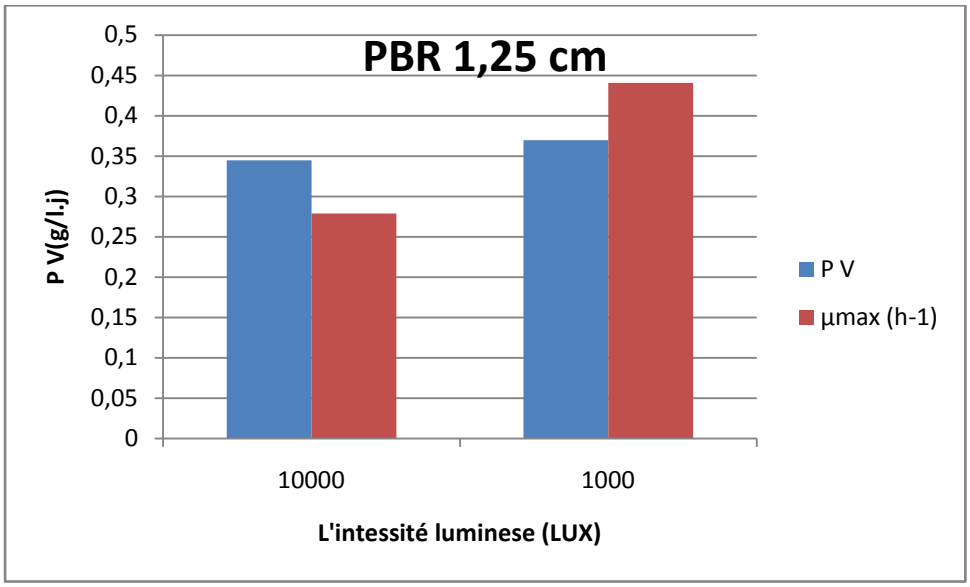


Figure IV.2: l'effet de L'intensité lumineuse sur PVet µmax à X_0=1g/l

Pour I =1000 lux, on a obtenue une valeur de Pv= 0,37g/l.j et μ_{max} =0,414$h^{-1}h^{-1}$, à l'intensité de I=10000 lux on remarque une diminution de la productivité de valeur de 0,345g/l.j et μ_{max} =0,279 h^{-1}.

IV.1.3. L'effet de la concentration sur Pv et µ max dans le PBR à E=1,25 cm :

L'effet de la concentration X_0 sur la Pv et µ max dans PBR d'épaisseur d'E=1 ,25 cm est illustré dans la **Figure (IV .3)**

Les cinétiques de croissance de spiruline sous l'effet de concentration illustré dans la **Figure (IV .4)** dans l'annexe

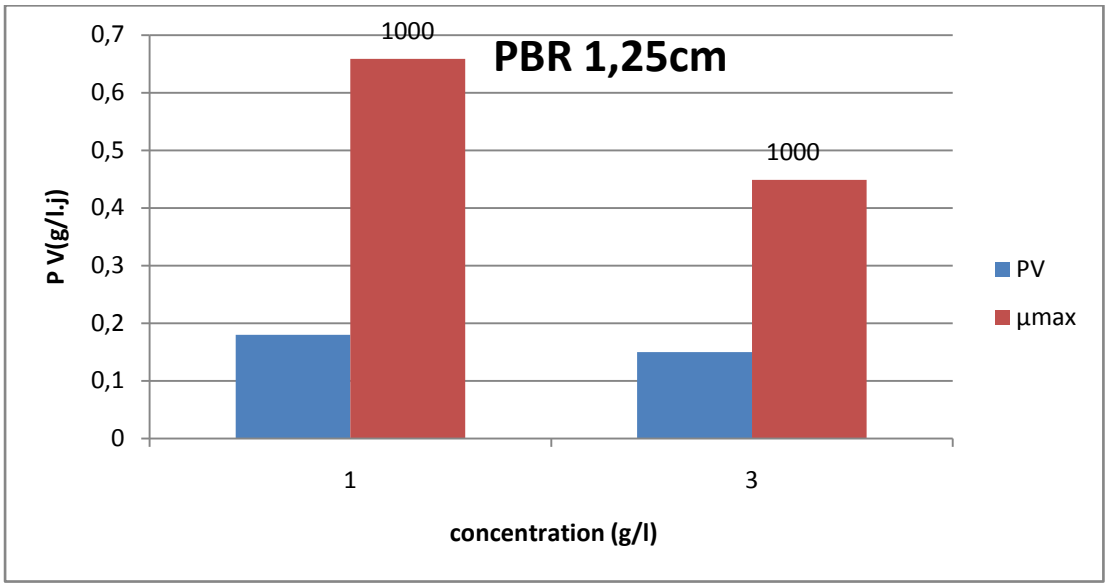


Figure IV.3: l'effet de concentration sur PV et μ_{max} à I =1000 lux

Pour une valeur d'intensité fixée , I = 1000 on fait varier la concentration X_0 , on noté une meilleure Pv et µ max à X_0=1g/l , Pv = 0 ,180g/l.j et μ_{max} =0,659 h^{-1} par contre à X_0=3 g/l ,les valeurs de croissance (pv et μ_{max}) diminue avec la concentration X_0, Pv=0,150g/l.j et μ_{max} =0,449 h^{-1}. A partir de ces résultats, on peut Dire que Pv et μ_{max} sont inversement proportionnelle avec la concentration de culture.

IV.1.4. l'effet de concentration sur PV et µ max dans PBR à E=1,75 cm :

L'effet de concentration X_0 sur PV et μ_{max} à I=1000 LUX est figuré dans l'histogramme (**IV.4**)

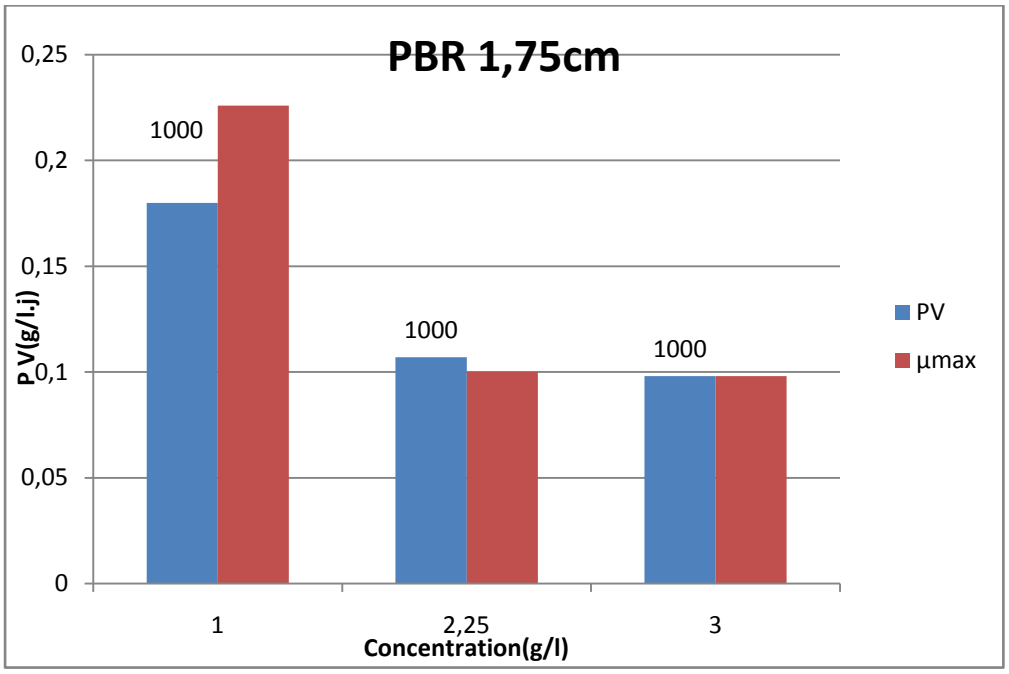


Figure IV.4: l'effet de concentration sur PVet µmax à I=1000 lux .

en regardant les valeurs de PV et µ max, on constate que la valeur optimal de concentration X_0 est de 1g/l , PV=0,18g/l.j et μ_{max} = 0,226 h^{-1} . La productivité volumique et μ_{max} est inversement proportionnelle avec la concentration.

IV.1.5. l'effet de l'intensité lumineuse sur PV et μ_{max} dans PBR à E=1,75 cm :

L'effet de l'intensité lumineuse sur PV et µ max à X_0=2,25g/l , X_0=3g/l est représenté dans la **Figure (IV .5).**

Les cinétiques de croissance de spiruline sous l'effet l'intensité lumineuse les **Figures (IV .1)** et **(IV .3)** illustré dans l'annexe 2 .

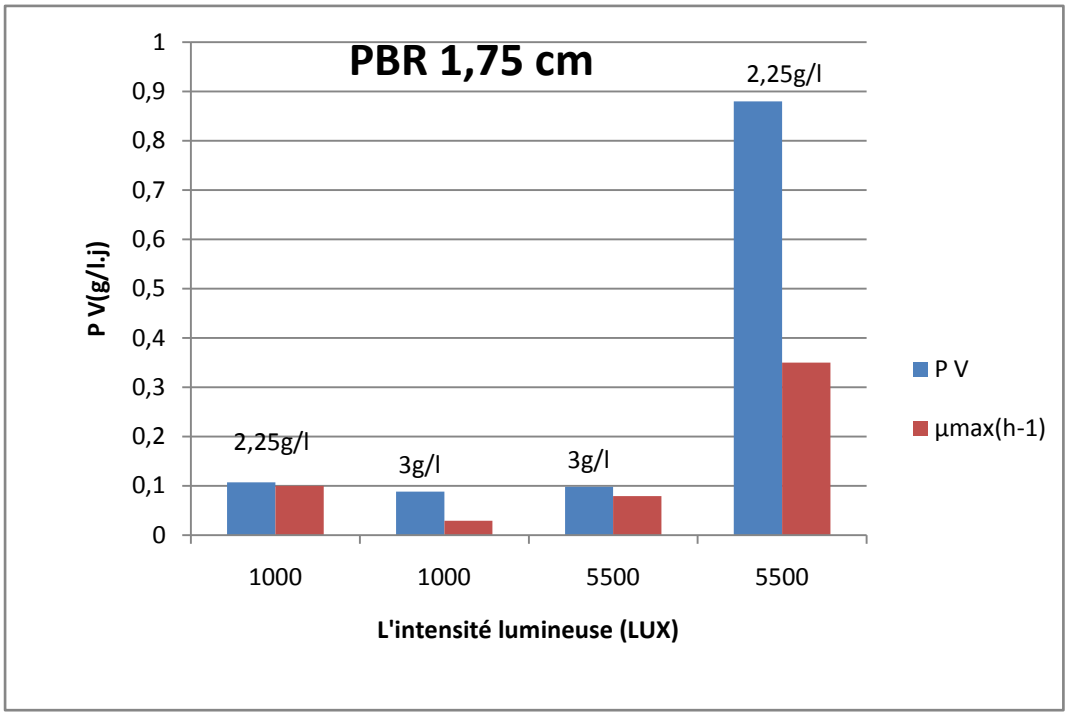


Figure IV.5: l'effet de l'intensité lumineuse sur PVet μ_{max} à X_0=2,25g/l , X_0=3g/l

à X_0=2,25g/l ; d'après les résultats on note une augmentation de la productivité à 5500 lux elle est huit fois supérieur (PV =0,88g/l.j et μ_{max} =0,35 h^{-1}) de celle obtenue à 1000 lux, . La productivité volumique et le taux de croissance est augmente lorsque l'intensité lumineuse augmente on dit que PV et μ_{max} est proportionnelle avec l'intensité lumineuse.

IV.1.6. L'effet de la concentration sur Pv et μ_{max} dans PBR à E=2,25 cm :

L'effet de la concentration X_0 sur Pv et μ_{max} à I=5500 lux pour le PBR à E= 2.25cm est représenté dans la **Figure (IV .6)**.

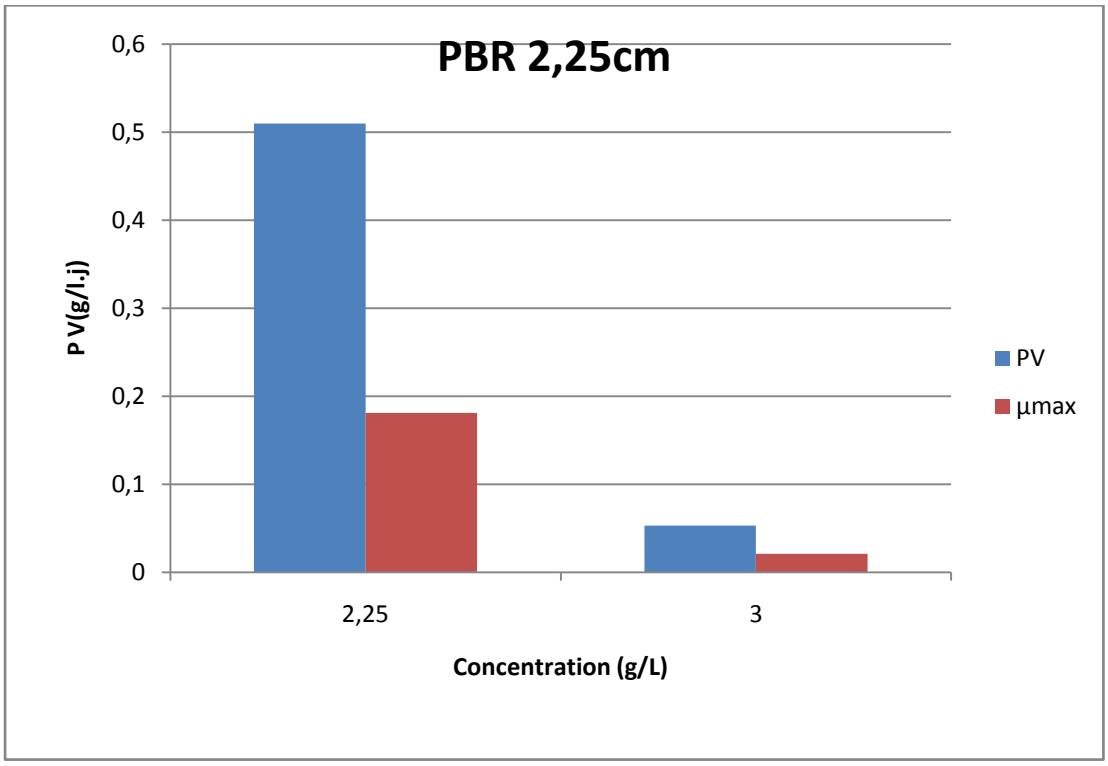


Figure IV.6: l'effet de concentration sur PVet μ_{max} à I =5500 lux.

On à remarqué une PV et μ_{max} optimale à X_0=2,25g/l de valeur de 0,51g/l.j et $\mu_{max=}$0,181h^{-1}. Cependant pour une culture plus dense X_0=3g/l, on obtient une faible PV=0,053g/l.j et μ_{max} =0,0211h^{-1} ce qui implique que la production de biomasse est inversement proportionnelle avec la concentration.

IV.1.7. Comparaison entre PV et μ_{max} à déférent épaisseur de PBR :

La comparaison des valeurs de PV et μ_{max} obtenues de différent épaisseurs de PBR à l'intensité fixée à I=1000 lux et X_0=1g/l nous permet d'exploré l'effet de profondeur de la culture sur la production de biomasse, les résultats sont illustrés dans la **Figure (IV.7).**

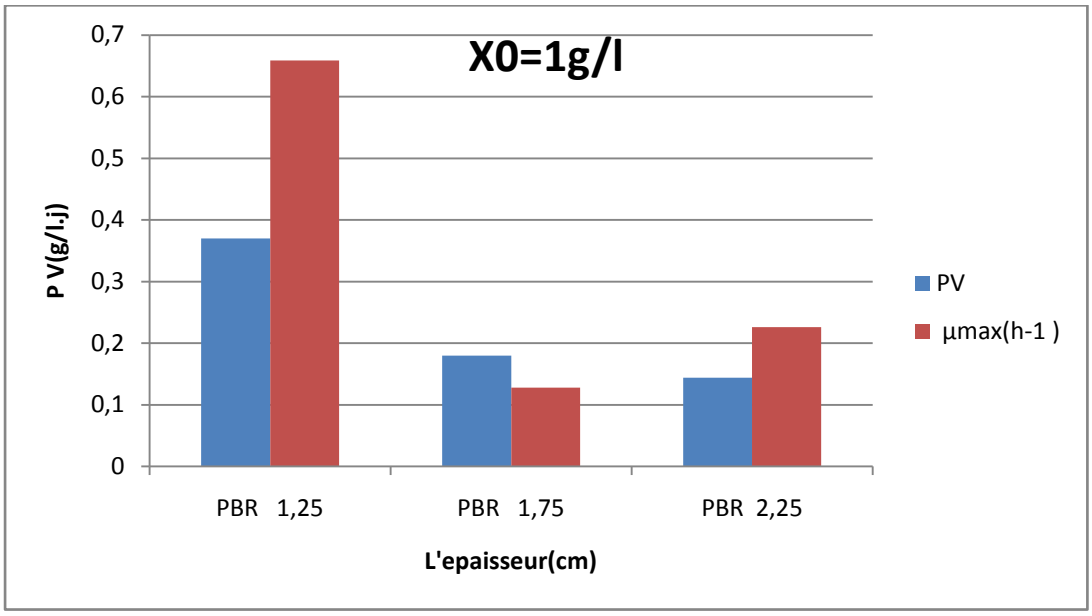


Figure IV.7: l'effet d'épaisseur sur PV et µmax dans défirent PBR à I=1000lux.

On observe que la production est optimale dans PBR à faible épaisseur E=1,25cm. Lorsque l'épaisseur augment la production (PV et μ_{max}) diminue, on dit que la production est inversement proportionnelle avec l'épaisseur de PBR.

IV.1.8. L'effet d'épaisseur sur PV et μ_{max} dans PBR, X_0=2,25 g/l :

L'effet d épaisseur sur PV et μ_{max} dans déférent PBR à (I=5500 lux, X_0=2,25 g/l) est représenté dans la **Figure (IV.8).**

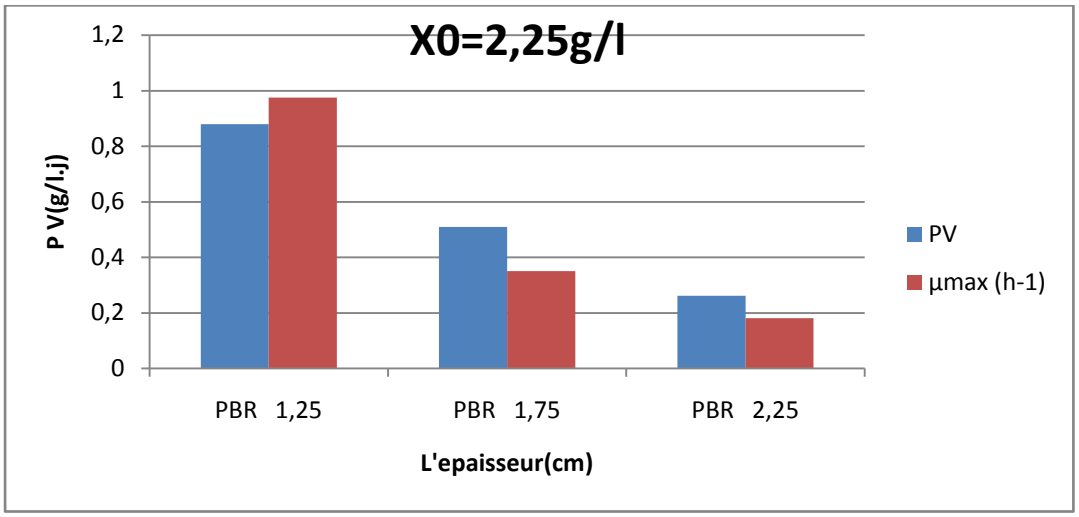


Figure IV.8: l'effet d'épaisseur sur PV et µmax dans déférents PBR à I=5500lux.

Selon l'histogramme on obtient une grande productivité égale 0,88 g/l.j et μ_{max} =0,975 h^{-1} pour l'épaisseur E=1,25 cm .On remarque que Lorsque l'épaisseur augment la production de biomasse (PV et μ_{max}) diminue, on dit que la PV et μ_{max} est inversement proportionnelle avec l'épaisseur de PBR.

Les cinétiques de croissance de spiruline sous l'effet d'épaisseur présenté dans les **Figures (IV .2) et (IV .5)** dans l'annexe 2.

IV.1.9. Comparaison entre PBR cylindrique et Annulaire :

La comparaison entre PBR cylindrique et Annulaire A X_0=1g/l , est représenté dans la **Figure(IV.9) .**

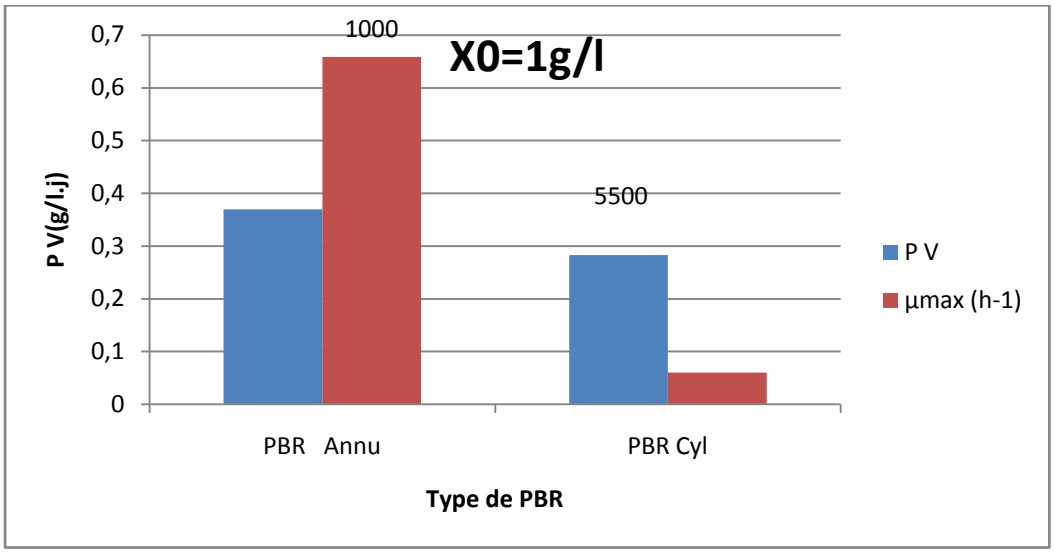


Figure IV.9: Comparaison entre PBR Cylindrique et Annulaire à x_0=1g/l.

Pour la PBR Annulaire on à une meilleur productivité (PV=0,37 g/l.j et μ_{max}=0,956 h^{-1}) à I=1000 lux. Para port au PBR Cylindrique classique **Figure (IV.10)** qui nous a donné une faible productivité que celle obtenue de PBR Annulaire (PV=0,283 g/l.j et μ_{max}=0,06 h^{-1}) d'après ces résultats on révèle l'efficacité de la nouvelle conception annulaire (la structure annulaire) .

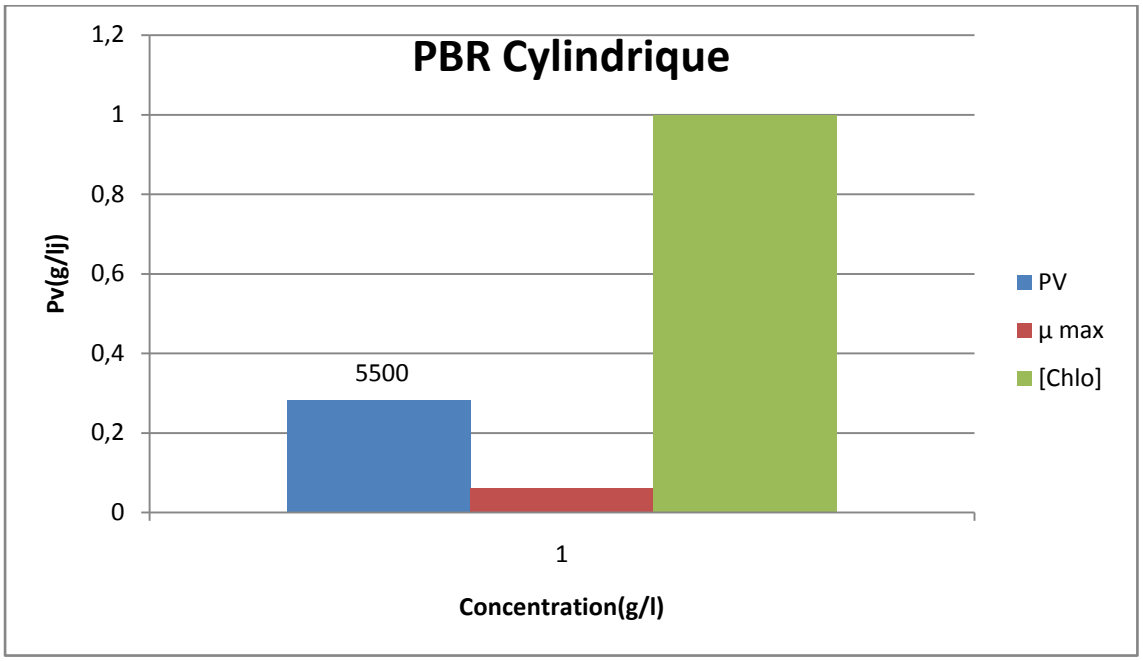


Figure IV.10: les paramètres de culture obtenue au sein de PBR cylindrique (I =5500 lux, x_0=1g/l).

IV.1.10. Les Facteurs qui influencent sur le taux de Chlorophylle :

IV.1.10.1 .l'effet de concentration sur le contenu de chlorophylle-a :

L'effet de concentration sur le contenu de Chlorophylle a à l'intensité lumineuse I =5500 lux est représenté dans la **Figure** (**IV.11**).

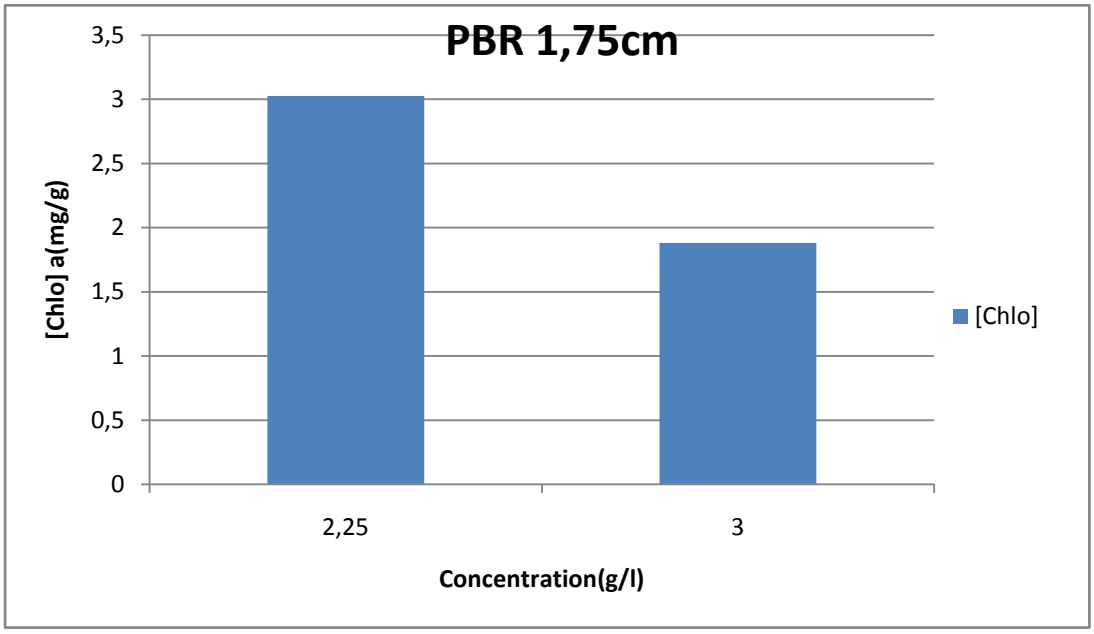


Figure IV.11: l'effet de concentration sur le Chlorophylle- a à I =5500 lux.

On a noté une quantité optimale de Chlorophylle [Chl]= 3,026mg/g à une densité x_0=2,25g/l. Cependant pour la culture de concentration plus élevé x_0=3g/l, on a obtenue [Chl]= 1 ,88mg/g .

De ces résultats on peut conclus que le taux de Chlorophylle est inversement proportionnel avec la concentration X_0.

IV.1.10.2 .l'effet de l'épaisseur sur le contenu de chlorophylle a :

L'effet de l'épaisseur sur le taux chlorophylle-a a été suivie pour une intensité lumineuse de I =5500 lux et de concentration de X_0 fixe à 2.25g /l. les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure (IV.12).**

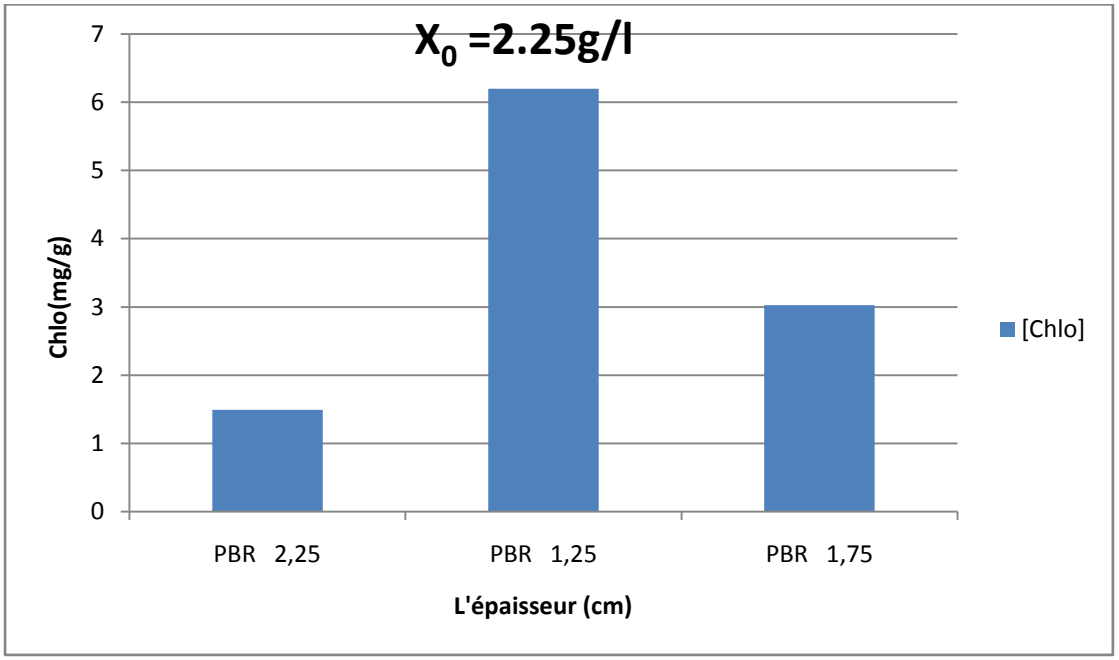


Figure IV.12: l'effet de l'épaisseur sur chlorophylle-a à I =5500 lux.

On constate que l la valeur de taux de Chlorophylle-a plus élevé est obtenue au sein de PBR a faible épaisseur E=1,25 cm. On remarque que lorsque l'épaisseur augment, le taux de Chlorophylle diminué. On dit que le contenue de chlorophylle-a est inverse proportionnalité avec l'épaisseur de PBR.

IV.2. L'interprétation des résultats:

IV.2.1. L'effet de l'intensité lumineuse sur les paramètres de croissance dans le PBR.

Les valeurs de productivité et de µmax obtenue des trois PBR en fonction de l'intensité lumineuse montre la même évolution.

a- Pour PBR à faible épaisseur (1 ,25cm) on à une productivité maximal a I=1000lux, Figure **(IV.2)**ces résultats peut être commentée par une bonne homogénéisation de la lumière dans le PBR. l'intensité lumineuse appliqué (I=1000 lux) on pas d'effet de photolyse sur la biomasse ., par contre a I=10000 lux on a une diminution du croissance qui preuve que la gamme d'intensité appliquée (10000 lux) est une zone

de phot-inhibition nous résultat sont on accorde avec celles décries par (Eleonora Sforza et al, 2014) [68] qui trouve les mêmes résultats,

b- pour le PBR d'épaisseur de 1,75cm et aux concentrations X_0=2,25 g/L et 3g/L, **Figure (IV.5)** la meilleur pv et µmax il est obtenue pour une culture de faible concentration X_0=2,25 g/L cette résultat peut être est expliqué par la bonne distribution et bonne pénétration de la lumière au profondeur de PBR ce qui résulte par une bonne production de biomasse a I_0=5500 lux.

par contre à X_0=3g/l la culture est plus dense sous l'effet d'atténuation de la lumière il ya une dominance de la zone photo-limitation et 'd'obscurité par rapport a d'autre zone dans le PBR , ces conditions ne permet pas le passage de la lumière au fond de PBR à cause de superposition important des filaments et EPS libérés dans le milieu

la **Figure (IV.13)**.

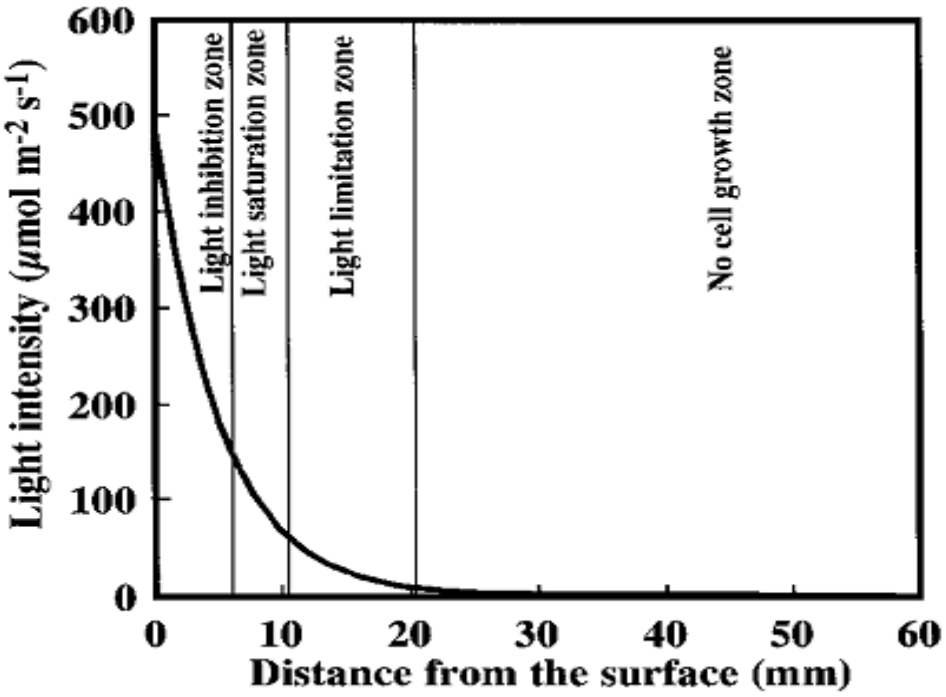


Figure (IV.13) :distribution de la lumière a l'intérieur de PBR éclairé d'un seul coté[69].

IV.2.2. L'effet de la concentration :

L'effet de la concentration suivie sur les trois PBR conçus révèle les mêmes variations de productivité et de µmax.Une faible productivité est obtenue pour des cultures plus dense **Figure (IV.3)** et**(IV.4)**, ce là peut être interpréter par la zone d'ombrage, les cellules dans cette zone bloquent la photosynthèse et le métabolisme cellulaire et orientées vers la voie respiratoire.

Dans la zone ombrée de PBR, la micro- algue nécessite l'énergie pour sa croissance, dans ces conditions il dégrade ses réserves (glycogène) par conséquent conduit à la diminution de poids sec de biomasse et influence négativement sur la PV de PBR et μ_{max} de micro algue cet résultat a un accord avec (James C. Ogbonna et Hideo Tanaka 2000) [69] .

On peut expliquer la diminution de Chlorophylle a en fonction de concentration X_0 **Figure (IV.11)** par la zone d'ombrage .dans la culture plus dense, on a une mal éclairage de culture. Cependant à faible concentration, on à une bonne distribution de lumière dans ce cas touts les cellules de culture recevant un éclairage suffisant qui permet d'augmente ces contenus en Chlorophylle a nécessaire pour la photosynthèse (Miguel Olaizola et al 1990) [70].

.IV.2.3. L'effet de l'épaisseur de PBR :

Selon les résultats obtenue on peut dire que la meilleur PV est observé dans le PBR à faible épaisseur (E=1,25cm) ce là peut être expliqué par la bonne pénétration de la lumière dans la culture. Le même résultat a été décri par (CHELLALI *et* MEDJBOUR*)* [65]. Cependant pour des valeurs de PV plus faible obtenus peut être expliqué par une atténuation importante de la lumière au sein de PBR plus épais.

- L’effet d’épaisseur sur le taux de Chlorophylle-a :

On peut expliquer les résultats de taux de Chlorophylle-a sous l’effet d’épaisseur de PBR **Figure**(**IV.12**) par la bonne distribution de lumière dans le PBR à faible épaisseur. Dans les PBR les plus épais on a atténuation de lumière.

On peut explique ces résultats par apparition des zones de photo-limitation et des zones d’obscurité à travers épaisseur de PBR**.**

Conclusion

Conclusion :

Dans ce travail on est s'intéressé a l'optimisation de la croissance d'un micro-algue (spiruline) par un PBR cylindrique Annulaire , nous avons comparé la productivité entre trois PBR de différentes épaisseurs (1.25, 1.75 et 2.25 cm) sous différents intensités lumineuses et de concentrations de l'inoculum de départ. Des cinétiques de biomasse de la spiruline est suivie et évalue les paramètres de croissance tel que la productivité, taux de croissance, ainsi que la teneure de chlorophylle, de l'autre coté on a comparé la productivité obtenue de PBR faible épaisseur avec celle de PBR cylindrique classique. D'après les résultats obtenus, on peut sortir par des conclusions suivantes:

- La productivité augmente avec l'intensité lumineuse.
- La productivité est inversement proportionnelle avec la concentration l'inoculum. Probablement due a la superposition important des filaments (EPS) qui ne permet pas le passage de la lumière au fond de PBR.
- La productivité optimale est de 0.37g/l/j a été obtenue avec le PBR à faible épaisseur 1.25 cm et à la faible concentration X_0 =1g/l. Ce la peut être expliqué par la bonne distribution de la lumière dans le PBR.

- Le taux de chlorophylle plus élevé est obtenu pour l'intensité de 5500 (lux).
- On conclure que le PBR Annulaire est mieux adapte pour les cultures plus dense(X_0) dont-on a obtenue des productivités et des taux de croissance plus élevé que celle obtenus dans le PBR cylindrique classique.

  En perspectives :

- Conception des structure à grande échelle et optimisation des conditions de milieu (I, X_0) pour des densité de culture plus dense
- Application et développement des cultures sous la radiation directe de soleil 100.000lux.

Bibliographie :

[1] Cruchot. H., (2008) La spiruline, bilan et perspectives, Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie de BESANCON, Université de Franche-Comte, France, p49.

[2] Fox R.D., (1996). *Spirulina, production & potential* . Aix en Provence Edisud 246P. ISBN 2-7449-0100-8.

[3] Pelaez, F. (2006). The historical delivery of antibiotics from microbial natural products. Can history repeat, *Biochem. Pharmacol*: 977-981.

[4] Salle. M, Dankoko .B, Badiane M, Ehua E, Kuakuwi .N, (1999). La spiruline: une source d'alimentation à promouvoire. *Médecine d'Afrique Noire*. Vol 46, N°: 87-92.

[5] Chorus I. and Bartram J. *Toxic cyanobacteria in Water : A guide to their public health consequences, monitoring and management*. http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxcyanobacteria.pdf, page consultee le 11 décembre 2006.

[6]*http://ecls.esa.int/ecls/attachments/MELiSSAPhase5/education/photobioreacteur. Pdf.*

[7] FARRAR W-V. (1966). *Techuitlatl, A Glimpse of Aztec Food Technology*. Nature, 211, 341-342.

[8] FOX R.D., 1986. Algoculture : la spiruline, un espoir pour le monde de la faim.Edisud, Aix-en-Provence, ISBN 2-85744-262-9, 319 p.

[9] DELPEUCH F., JOSEPH A. et CAVELIER C., 1976. Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (Oscillatoriaplatensis) chez quelques populations du KANEM (TCHAD). Ann. Nutr. Alim. , 29, 497-516.

[10] Giraldine -Andréani C, 2005. Spiruline, système sanguine, système immunitaire et cancer. *Phytothérapie*: 158-161.

[11] GNECLIE mahi alain (2008**).** Thèse de doctorat, Utilisation des normes qualités comme outils de pérennisation des fermes de spiruline dans les pays en voie de développement p3.

[12] FOX R.D., (1999) .la spiruline : technique, pratique et promesse
Edisud. 246P. ISBN 2-7449-0100-8.

[13] Belay A, (2007). Spirulina (*Arthrospira*): production and quality assurancein Spirulina In Gershuin ME et Belay A. *Human Nutrition and Health*. Taylor et francis.

[14] Castenholz R W and Waterbury J B.,(1989). Oxygenic photosynthetic bacteria. Section 19, In: Staley J T,Bryant M P, Pfenning N and Holt J G., Eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3, Williams and Wilkins.Baltimore, USA. pp 1710-1806.

[15] Whitton B., (1992). Diversity, ecology and taxonomy of the cyanobacteria. In: Mann N and Carr N, Eds. *Photosyntheticprokaryotes*. Plenum Press; pp. 1-37.

[16] Wheeler D.L., Chappey C., Lash A.E., Leipe D.D., Madden T.L. and Schuler G.D. (2000). *Database resources of the National Center for Biotechnology Information*.; **28 (1)**: p. 10-14.

[17] Boone D.R., Castenholz R.W., Garrity G.M. *The Archaea and the deeply branching and phototrophic Bacteria*. In: Boone D.R & Castenholz R.W. (ed.) (2000).Bergey's Manual of SystematicBacteriology. New York: Springer-Verlag; 2001.**1**.

[18] Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J, Rapp BA, Wheeler DL *GenBank*. janvier 2000; **28 (1)**: p. 15-18.

[19] Charpy .L (2008). Colloque International « la Spiruline et le développement», formation et transfet de thechnologie, en matière de culture de Spiruline : 28 - 29 et 30 avril 2008.Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR

[20]Falquet.J et Hurni J-P. *Spiruline : aspects nutritionnels*. www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf, page consultee le 20 janvier 2008.

[21]Zarrouk C., 1966. Contribution à l´étude d´une cyanophycée influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch. et Gardner) Geitler. Thèse doctorat. Université de Paris

[22] Ciferri.O (1983). Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev. 47(4), 551Ŕ578.

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

[24] Hug .C et Von der wied .D (2011). La spiruline dans la lutte contre la malnutrition, Bilan et perspectives. Antenna Technologies, Genève, 30p.

[25] Sall M.G, Dankoko B., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwin N. *Résultats d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec la Spiruline à Dakar (à propos de 59 cas)*. 1999; **46 (3)**: p.143-146.

[26] Romay C., Armesto J., Remirez D., Gonzalez R., Ledon N. and Garcia I. *Antioxidantand anti-inflammatory properties of C-phycocyanin from blue-green algae*. Inflammation Research. Janvier 1998; **47(1)**: p. 36-41.

[27] Australian government, Department of Health and Ageing Therapeutic. *Compositional guideline,Arthrospira-platensis*. www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm, page consultee le 05 decembre 2006.

[28] bujard e., braco u., mauron j., mottu f., nabholz a., wuhrmann j.j et clement g.,(1970) « Composition and nutritive value of blue-green algae (spirulina) and their possible use in food formulations. » 3rd International Congress of Food Science and Technology, Abstracts. Washington.

[29] ANUSUYA D.M. et VENKATARAMAN L.V., (1983).
« Supplementary value of the proteins of the blue-green algae Spirulina platensis to rice and wheat proteins. » Nutr. Rep. Internat., N°28. P1029-1035

[30] FALQUET J.,(1996). Spiruline :aspects nutritionnels Version papier : 22P. Disponible sur le site http://www.antenna.ch/aspectsNutri.htm . Consulté le 29avril 2002

[31] VENKATARAMAN L.V., (1998). « Spirulina by 2001AD»Cyanobacterial biotechnology : proceedings of the International Symposium september 18-21 1996.Oxford & IBH Publishing CO.PVT.LTD., P267-273.

[32] JOHNSON P. et SHUBERT E., (1986). « Availability of iron to rats from spirulina, a blue-green algae »Nutrition Research N°6, P85-94

[33] FEDKOVIK .Y., ASTRE. C., PINGUET. F., GERBER. M., YCHOU. M., et PUJOL. H.,(1993). « Spiruline et cancer»Spiruline, algue de vie ; bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco N° spécial 12 – Monaco,Musée océanographique. P117-119.

[34] CAPET. F., DEBAILLIE. R., TAFFOREAU .J., et VAN OYEN .H.,(1999). « Définitions et symptômes du diabète. »Diabète : situation actuelle et éléments pour le développement d'une politique de santé ; Centre de Recherche Opérationnelle en Santé Publique – Episérie N°19 ; P8-12.

[35] MANI U.V., SANGEETA S., IYER U.M. and SUBRAMANIAN S.R. « Studies on the effect of spirulina supplementation in Control of Diabetes Mellitus » Cyanobacterial biotechnology : proceedings of the International Symposium, september 18-21 (1996). Oxford & IBH Publishing CO.PVT.LTD. P301-304.

[36] HENRIKSON R., (1997). Earth Food Spirulina (Ronore Enterprises, Inc.) Disponible sur le site http://spirulinasource.com . Remis à jour le 15 novembre 1999.

[37] SIRONVAL C.,(1993). « La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives » Spiruline, algue de vie ; bulletin de l'Institut Océanograhique de Monaco N° spécial 12 – Monaco,Musée océanographique. P203-210.

[38] HENSON R., (1993). « Spirulina : Health food for the aquarium »Freshwater and Marine Aquarium, P70-72.

[39] Iltis.A, (1968). Tolérance de salinité de Spirulina platensis (Gom.) Geitl., (Cyanophyta) dans les mares natronées du Kanem (Tchad). *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Hydrobiol.,* vol 2, 119-125.

[40] Jarisoa T., (2005). Adaptation de spiruline du sud de Madagascar à la culture en eau de mer, Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. Thèse doctorat en Es Sciences en Océanologie Appliquée. Université de Toliara.

[41Jourdan .J.P. (2012). Cultivez votre spiruline », manuel de culture artisanale. http://www.spirulinasource.com/microjourdan.html .Révision du 14 mars 2012 .

[42] Mandalam, R. and B.O., P. (1998). Elemental balancing of biomass and medium compostion enhances growth capacity in high density Chlorella vulgar cultures. Biotechnology and bioengineering, 59(5) :605_611.

[43] Pratt, R. (1943). Studies on Chlorella vulgaris vii :In_uence of the agee of the culture on the rates of photosynthesis and respiration. American Journal of Botany, 30:404_408.

[44] Cornet, J.-F. (2007). Procédés limités par le transfert de rayonnement en milieu hétérogène.Habilitation à diriger des recherches, Université Blaise Pascal.

[45] RABINOVITCHE E.et GOVINIDJEE, (1969). photosynthesis, Johanewiley et Soins, New York.

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

[47] Yang, C., Hua, Q., Shimizu, K. (2000). Energetics and carbon metabolism during,growth of microalgal cells under photoautotrophic, mixotrophic and cyclic lightautotrophic/dark-heterotrophic conditions. Biochemical engineering. 6, 87–102.

[48] Robert, D (1998). Biologie végétale, volume 1: organisation cellulaire.

[49] Ogawa T, Fujii T, Aiba S (1980). Effect of oxygen on the growth (yield) of Chlorella vulgaris. Arch Microbiol 127: 25 – 31.

[50] John F. Bookout (President of Shell USA) (1989).“Two Centuries of Fossil Fuel Energy” International Geological Congress, Washington DC; July 10,1985. Episodes, vol 12, 257-262 (1989).

[51] Pulz , O. (2001). Photobioreactors : production systems for phototrophic microorganisms. AppliedMicrobiology and Biotechnology, 57(3) :287_293.

[52] Raven, J. A., Beardall, J. (2003). Carbon acquisition mechanisms of algae: Carbondioxide diffusion and carbon dioxide concentrating mechanisms, Photosynthesis in Algae.225–244.

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

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

[55] Erell .OLIVO le 21 septembre (2007) à ifremer, Nantes (44) .Thèse de doctorat conception et étude d’un photo- bioréacteur pour la production en continu de micro-algues en ecloseries aquacoles page 31.

[56] Chisti, Y. and Moo-Young, M. (2001). "Bioreactors Encyclopedia of Physical Science and Technology" Meyers, R. A. New York, USA, Academic Press. 247-271.

[57] Ogbonna, J. C. (2003). "Photobioreactors." Recent Advances in Marine Biotechnology. **Vol 9**. 315-348.

[58] Acien. Fernandez, F. G., Sevilla, J. M. F., Perez, J. A. S., Grima, E. M. and Chisti, Y.(2001)."Airlift-driven external-loop tubular photobioreactors for outdoor production of microalgae: assessment of design and performance." Chemical Engineering Science **56** (8). 2721-2732.

[59] Tredici, M. R. (1999). "Bioreactors, photo." Encyclopedia of Bioprocess Technology:Fermentation, Biocatalysis and BioseparationFlickinger, M. C. and Drew, S. W.New York, USA, John Wiley & Sons. 395-419.

[60] Akkerman, I., Janssen, M., Rocha, J. and Wijffels, R. H. (2002). "Photobiological hydrogen production: photochemical efficiency and bioreactor design." International Journal of Hydrogen Energy 27 (11-12). 1195-1208.

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

[62] : Zittelli, G. C., Rodolfi, L., Biondi, N. and Tredici, M. R. (2006). "Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of Tetraselmis suecica in annular. columns." Aquaculture 261 (3). 932-943.

[63] Jordan J P (1999). Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal .Publication Antenna Technologies.

[64] RIPLY D.FOX (1986). technique pratique et promesse.

[65]*CHELLALI Amina et MEDJBOUR Sabrina (2014).* Optimisation de production d'une biomasse algale (*Arthrospira platensis)* dans deux type de photo-bioréacteur , mémoire ,université de Médéa 2013-2014 .

[66] VONSHAK. Avigad , (2002).Spirulina platensis (arthrospira) : Physiology, Cell- biology and Biotechnology. Edition Taylor & Francis e-Library, londan P252.

[67] Danesi, E.D.G., Rangel Y. C.O., Carvalho, J.C.M. and Sato, S. (2004). Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by Spirulinaplatensis. Biomass and Bioenergy.26: 329-335.

[66] Eleonora Sforza et Barbara.Gris ,Carlos.E deFarias.Silva,Tomas.Morosinotto, Alberto.Bertucco (2014). Effects of Light on Cultivation of Scenedesmus Obliquue in Batch and Continuous Flat plate photobioreactor. chemical engineering transactions vol.38 ,2014.

[69] James.C. Ogbonna & Hideo Tanaka. (2000) .Light requirement and photosynthetic cell cultivation – Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* 12: 207–218, 2000.

[70] Miguel. Olaizola et Eirik.O,Duerr.(1990). Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of Spirulina platansis .Journal of Applied phycologie 2: 97-104,1990.

Annexe.1: Sites géographiques où pousse naturellement la spiruline selon (Fox, 1999).

paiyer	Région
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan,Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom,
Ethiopie	Ounianga kebir ,Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara
Inde	Lacs lonar et Nagpur
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Pakistan	Mares près de Lahore
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas
Mexique	Près de l'Ile d'Amantani dans le lac Titicaca Lac Texcoco ; lac Cratère
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
France	Camargue

Annexe.2:les graphes de cinétique de la croissance :

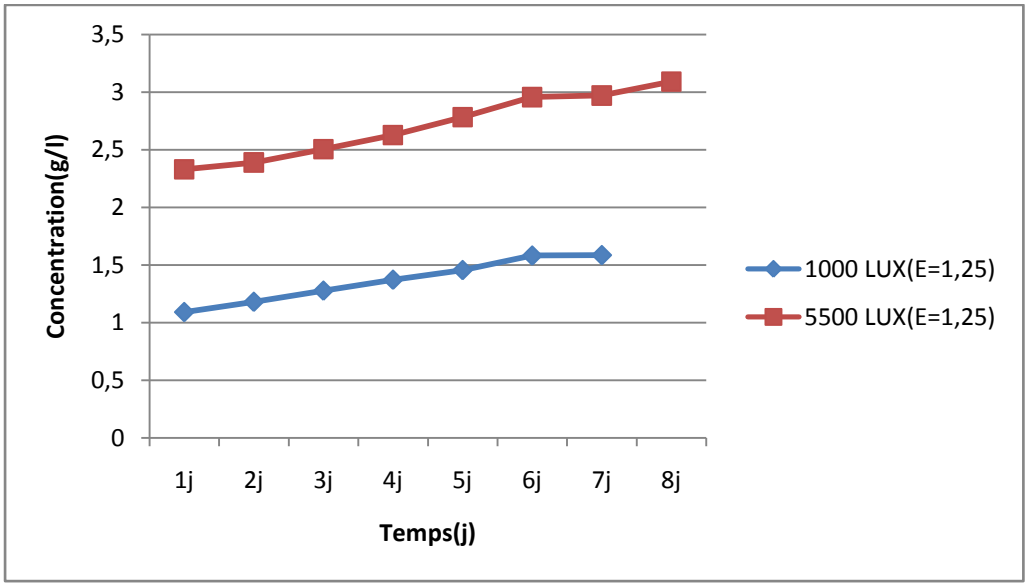


Figure IV.1: l'effet de l'intensité lumineuse sur la croissance à X0=1g/l

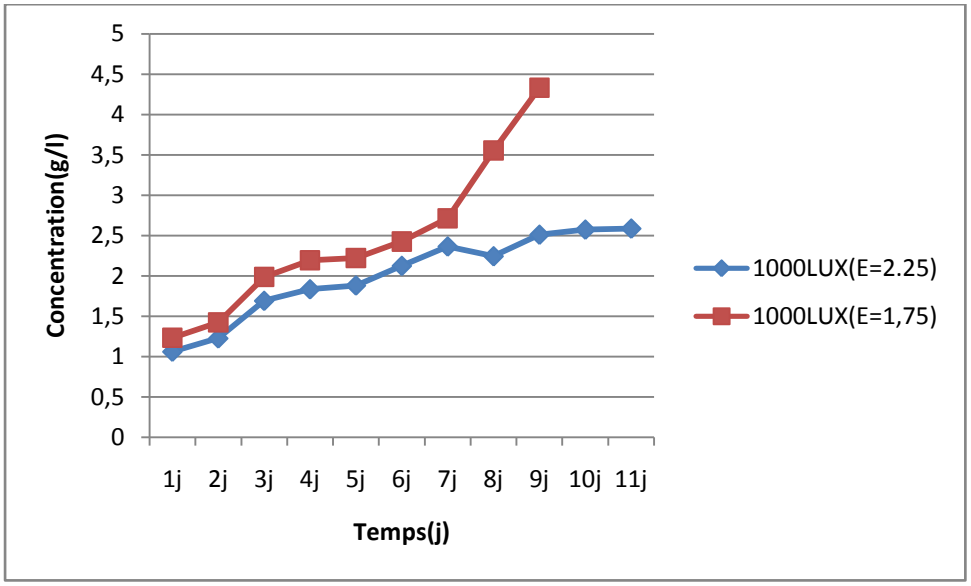


Figure IV.2: l'effet de l'épaisseur sur la croissance à X0=2,25g/l.

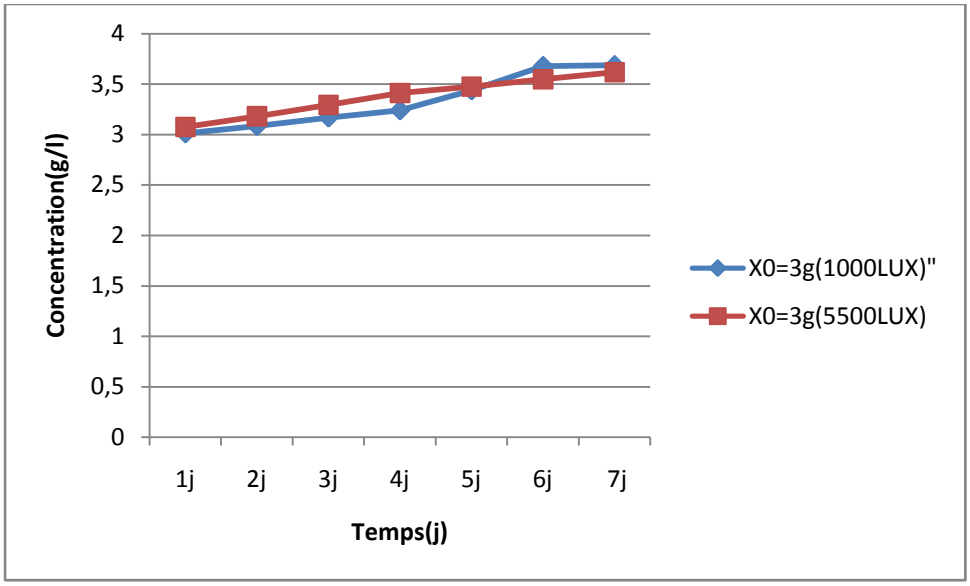


Figure IV.3: l'effet de concentration sur la croissance dans à PBR E=1,75cm

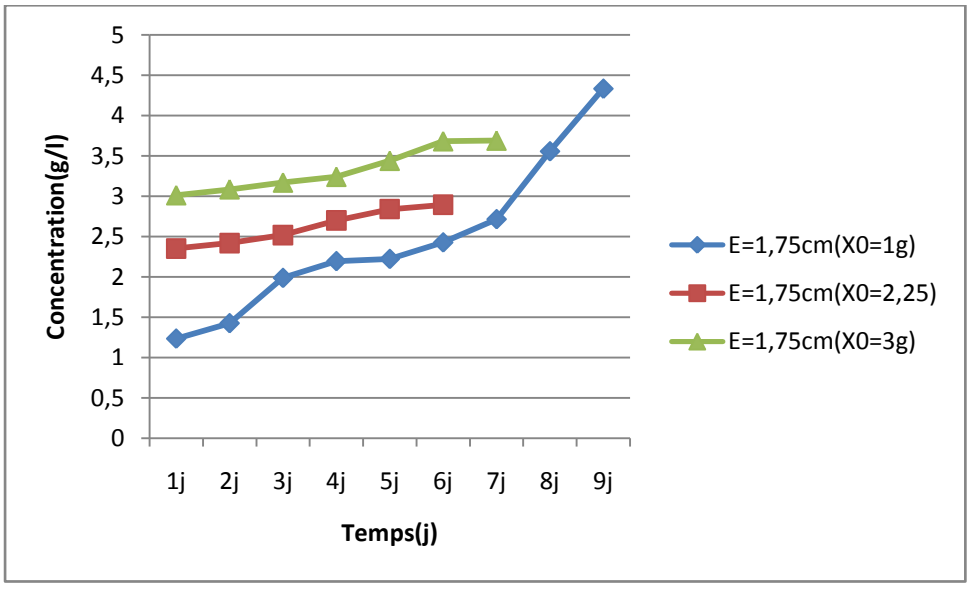


Figure IV.4: l'effet de l'intensité lumineuse sur la croissance à I_0=1000 lux

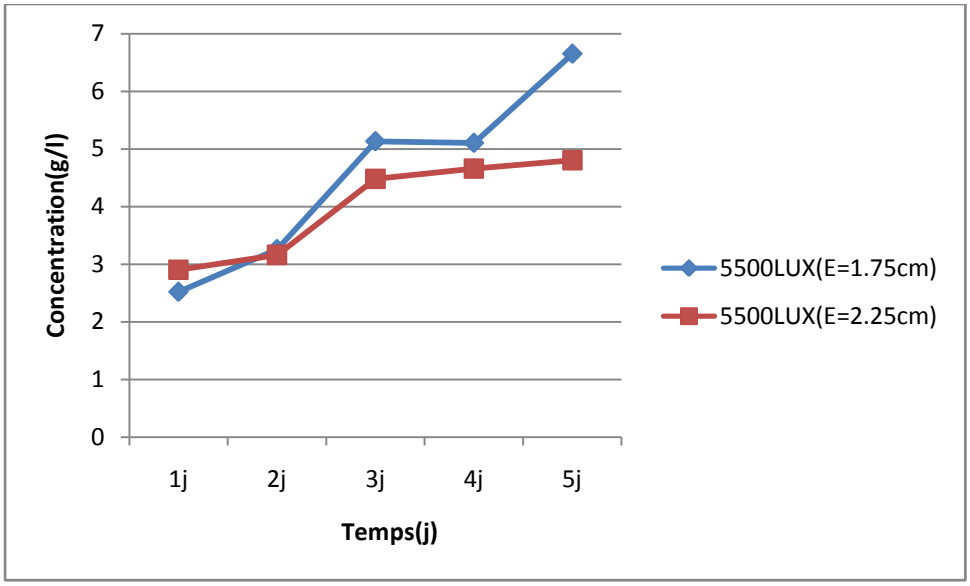


Figure IV.5: l'effet de l'épaisseur sur la croissance à X0=2,25g/l

Annexe .3 :



photo .1 : le photolyse du culture(culture stressé) .

Annexe 4

BGr 11 (Pr Roger stanier pour les algues bleues en generale pour la spiruline ,il faut ajouté 1g/l de NaCl.

NaNO3	1.5g/l
K2HPO4	0.04
MgSO4,7H2O	0.075
CaCl2 ,2H2O	0.036
Acide citrique	0.006
Citrate d'ammonium ferrique	0.006
EDTA	0.001
Na_2CO3(Carbonate de Soduime)	0.02

Plus le melange d'oligo-élements (1ml/l celui-ci-dessus).

H3BO3	2.86g/l
MnCl2, 4 H2O	1.81
ZnSO4, 7 H2O	0.222
Na_2MoO_4 , 2H2O	0.39
CuSO4, 5 H2O	0.079
$CO(NO3)_2$, 6H2O	0.0494