الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE D'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE Dr. YAHIA FARES - MEDEA -

Projet de fin d'études

Présenté pour l'obtention du diplôme de master en Génie des procédés

Spécialité* : *Bioprocédés Pharmaceutiques

THEME

Optimisation de production d'une biomasse algale (*Arthrospira platensis)* dans deux type de photo-bioréacteur

Dirigé par : ***présenté par :***

M AINAS.M ***CHELLALI AMINA***
MEDJBOUR SABRINA

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2013/2014

REMERCIEMENT

Tout d'abord nous remercions allah qui nous a donné le courage ,la patience pour réaliser ce modeste travail .

Nous tenons à remercier notre promoteur Dr AINES.M d'avoir accepté de nous encadrer et pour le suivi continuel tout le long de la réalisation de ce mémoire et qui n'ont pas cessée de nous donner ses conseils et des remarques.

Nous remercions également chaleureusement les personnes nous ont encouragé à finir ce travail par des gestes d'amitié dont nous sommes reconnaissants. A titre d'exemple, nous citerons l'ingénieur de laboratoire de technologie d' université de medea Mm ben farrah

Nos remerciements vont aussi au président du jury et aux membres du jury examinateurs qui nous fait l'honneur de participant au jugement de ce travail .

Ainsi qu'a tous les enseignants du département De Génie des procédés de MEDEA qui ont contribués à notre formation.

Et enfin nous remercions l'ensemble, collègues de notre promos de Génie des procédés 2014 et tous nos amis et toute personne ayant participé de prés ou de loin à la réalisation de ce travail .

Dédicace

Avant tous, je remercie dieu le tout puissant
de m'avoir donné le courage et la patience pour
réaliser ce travail malgré toutes les difficultés
rencontrées.

Je dédie ce modeste travail :

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

A mon frères : MOURAD

A mes sœurs : RACHIDA, FATIMA, SOUAD

A toutes mes amies,
surtout :FARIDA ,KELTOUM,FADHILA ,ZOUZOU,

A ma binôme :sabrina

A tous les amis d'études surtout ceux Génié des procédés promotion 2014
A ma grande famille :CHELLALI

AMINA

Dédicace

je voudrais dédie ce modeste travail

A mes très cher parents que dieu me les garde qui m'ont tant soutenu et encouragé dans tout les domaines et surtout pour réaliser ce mémoire.

A mes chers deuxième parents :Ghania et Abd azize

qui m'ont très bien accueillis dans leur maison

comme leur fille.

A mes très chères sœurs : Meriem ,Narriman , Houria Yousra, Khaoula et Fadhila

A mes grands parents :Ali et Rabah et mima

A tout la famille Medjbour et Allag

A ma binôme Amina

A toutes mes amies, surtout :

Samia, najia, saida,

A tous les étudiants de Génie

Des procèdes 2014

Sabrina

III -1-2) Conception de culture en batch…….....…..32

III -1-3) Le milieu zarrouk …….....……..35

III -2) Les méthodes…….....……..37

III -2-1) Mesure de la matière sèche…….....……37

III -2-2) Mesure des paramètres cinétique de croissance.....38

III -2 -3) Mesure de concentration des culture…….....……38

III -2-4) Détermination de chlorophylle …….....…….39

III -2-5) Extraction et dosage des protéines…….....40

III -2-5 -1) Dosage de protéine par méthode de bradford(1976)…….....41

III -2-5-2) Les avantages de la méthode de bradford……....……42

Chapitre IV : résultat et discussion

IV– 1) Effet de l'intensité lumineuse sur la cinétique de croissance …….....……45

IV–1 -1) Comparaison entre les trois cinétiques de PBR cylindrique…….....……45

IV -1-2) comparaison entre les cinétiques de PBR conique …….....…..47

IV-1-3) comparaison entre les deux formes cylindriques et coniques (valeur optimale).....48

IV -2) étude de effet de lumière sur le Umax et productivité …….....48

IV -3) l'effet de l'intensité lumineuse et le diamètre de PBR sur le teneurs en chlorophylles et protéines …….....….51

IV -4) Evolution du pH dans les phtobioreacteurs.....52

Conclusion.....53

Bibliographie.....54

Annexe

I– 4 -1-3) Le pH …….....13

I– 4-2) Milieu de culture …….....……13

Chapitre II : la photosynthèse et le photobioreacteur

II– 1) La photosynthèse…….....…....15

II -1-1) phase claire (les réactions photochimiques) …….16

II -1-1-1) Transport non cyclique des électrons…….....……..16

II -1-1-2) Transport cyclique des électrons…….....……18

II -1-2) phase sombre (la fixation du CO2 : le cycle de Calvin)…….....……20

II -1-3) Rendement photosynthétique des micro-algues…….....22

II– 2) Généralité sur les photobioreacteurs…….....22

II -2-1) Qu'est ce qu'un photobioréacteur ?.....22

II -2-2) Les deux formes géométriques les plus courantes…….....…….23

II -2-2-1) Les photobioréacteurs plats …….....23

II -2-2-2) Les photobioréacteurs cylindriques…….....……24

II -2-2-2-1) Les photobioréacteurs de type colonne…….....24

II -2-2-2-2) Les photobioréacteurs de type annulaire…….....…25

II -2-2-2-3) Les photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement …….....…..26

II -2-2-2-4) Les photobioréacteurs tubulaires agencés verticalement 27

II -2-3) Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs…….....……29

II -2-3-1) Eclairage…….....…….29

II -2-3-2) Angle d'inclinaison…….....…….31

Chapitre III : matériels et méthodes

III -) Matériel et méthodes…….....……..32

III - 1) Matériel…….....……..32

III -1-1) matériel biologique…….....……32

SOMMAIRE

Introduction…….....1

Chapitre I : spiruline ,Etude biologique ,valorisation ,culture

I-1)Etude biologique…….....…..3

I -1-1) Historique de la spiruline …….....…….....3

I -1 -2) Qu'est –ce que la spiruline ?.....4

I -1-3) Taxonomie …….....…….5

I -1 -4) Reproduction …….....…….....….....6

I -1-5) Les pigments……..…….....…...6

I– 2) L'interet de spiruline :…….....…..8

I– 2-1) l'aspect nutritionnel …….....…….8

I– 2-1-1) Protéine …….....……8

I– 2-1-2) Glucide …….....……9

I– 2-1-3) Lipides …….....……9

I– 2-1-4) Vitamines …….....9

I– 2-1-5) Minéraux et Oligoéléments…….....10

I– 2-1-6) Polyphénols …….....…10

I– 2-2) L'aspect thérapeutique…….....…..10

I– 2-3) l'aspect aquaculture et aquariophilie…….....…11

I– 3)Toxicologie…….....……..12

I– 4) Culture de la spiruline …….....…...12

I– 4-1) Condition de culture …….....……12

I– 4-1-1) La températur…….....……..12

I– 4 -1-2) La lumière…….....…...13

Liste des tableaux

Tableau I– 1 : systématique de la spiruline……...……**6**

Tableau I– 2 : Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de Spirulina.....……..……..**7**

Tableau III– 3 Les paramètres expérimentale sélectionnée pour étude **:**.....**33**

Tableau III -4 : les Caractéristiques des réacteurs utilisés dans les expériences……....**34**

Tableau III– 5 : composition de milieu ZARROUK (1966) ……..…**35**

Tableau III -6 : composition de la solution A5(g /l) ……..….**36**

Tableau III -7 : composition de la solution B6 (en mg/l) ……...**36**

Liste des diagrammes

Diagramme III– 1 : Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle …….**39**

Diagramme III– 2 : les étapes d'extraction de protéine …….....**41**

LISTE DES FIGURES

Figure II -11 : : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de microalgues…….....**30**

Figure II– 12 : les déférents photobioreacteurs préparer au niveau de laboratoire **33**

Figure III– 1 : extraction de chlorophylle…….....….**40**

Figure III– 2 : Spectre d'absorption du complexe Coomassie-protéine…….....**42**

Figure III -3 : Courbe d'étalonnage de l'abumine, λ=590 nm, avec une pente égal=0,001…….....**43**

Figure IV– 4: Cinétique de croissance de spiruline dans les PBR cylindriques A(PBR 18 ml); B (PBR 250 ml) ; C(PBR500ml)…….....….....….**46**

Figure IV– 5 :Cinétique de croissance de spiruline dans les PBR coniques A (PBR 250 ml) ; B(PBR 500ml)…….....……..….**47**

Figure IV– 6: comparaison entre les cinétique de croissance obtenues dans les deux formes de PBR cylindrique et conique…… …….....……**48**

Figure IV -7 : effet de la lumière sur taux de croissance spécifique de spiruline….....**49**

Figure IV -8 : effet de l'intensité lumineuse sur la vitesse de croissance et la productivité. A (μmax) ; B (temps de génération) ;C(productivité)…….....**50**

Figure IV– 9 : effet de la intensité lumineuse sur taux le contenue en chlorophylle.....**51**

Figure IV -10 : effet de la lumière sur l'intensité lumineuse sur les contenue en protéines…….....**52**

Figure IV 11: Evolution de PH dans un photobioréacteur **53**

Liste de figures

Figure I– 1 : morphologie de la spiruline…….....**5**

Figure I– 2 : Cycle biologique de la Spiruline …….....**6**

Figure I– 3: Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse …….....**8**

Figure II– 1 : Schéma du transport acyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine …….....…….....**18**

Figure II– 2: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine. …….....**19**

Figure II– 3 : Complexes macromoléculaires et transferts d'électrons et de protons au niveau de la membrane du thylakoïde. PSII : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, b6_f : cytochrome b6_f , PSI : photosystème I, Fer : ferrédoxine….....**20**

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 clart…….....**21**

Figure II– 5 : Géométrie du photobioréacteur plat…….....……..**24**

Figure II -6 : : Photobioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en écloserie…….....….**25**

Figure II– 7: Photobioréacteurs annulaires verticaux…….....….....**26**

Figure II– 8 : Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage (b) …….....**27**

Figure II– 9 : Photobioréacteur « Biocoil » (Richmond 2000) inventé par Lee Robinson (brevet européen n° EP 0239272, 6 mars 1987).....**28**

Figure II -10 : Photobioréacteur tubulaire pour la culture de Spirulina spp. en extérieur utilisant une surface réfléchissante …….....…...**28**

Liste abréviation

Chla : chlorophylle a

CID : le carbone inorganique dissous

DO : la densité optique

Ms: matière sèche

OEC : complexe d'oxydation de l'eau

Pi : phosphate inorganique

PRB : photobioreacteur

PSI : photosystèmes I

PSII : photosystèmes II

TG : le temps de génération

Nomenclateur

ATP : adénosine triphosphate

CaCl2 : chlorure de calium

Co(NO3)2, 6 H2O : nitrate de cobalte

CuSO4, 5 H2O :sulfate de cuivre

EDTA : acide éthylène diamino-tétra-acétique

FeSO4, 7 H2O : sulfate ferreux monohydrate

H3BO3 : acide borique

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

K2HPO4 : phosphate d'hydrogène de potassium

K2SO4 :sulfate de potassium

MgSO4, 7 H2O : Heptahyrate de sulfate

MnCl2, 4 H2O : chlorure de magnésium

MoO3 : trioxyde de molybdène

Na2WO4, 2 H2O : tungstate de sodium

NaCl : chlorure de sodium

NADPH : Nicotinamide adénosine diphosphate

NaHCO3 : bicarbonate de sodium

NaNO3 : nitrate de potassium

NH4VO3: vanadate d'ammonium

NiSO4, 7 H2O : sulfate de nickel

P : la productivité

PS 700 : photosystèmes I

PS 680 : photosystèmes II

Ti2(SO4)3 :sulfate de thallium

Umax: la vitesse de croissance

ZnSO4, 7 H2O: sulfate de zinc

ملخص

العمل المقدم في هذه المذكرة يتعلق بتطوير الاوساط للسيانوبكتيري الغير مثبتة للازوت تسمي سبيرولينا بلاتونسي عن طريق تحسين معايير النمو للسبيرولين . كما ان هذه الاخيرة غالبا ما تنمو في وسط يسمي زروق . وفي عملنا هذا نقوم بتحديد انتاجية الكتلة الحيوية وعوامل النمو للسبيرولين وكمية البروتين و الكلوروفيل باستعمال نوعين من المفاعلات الحيوية الضوئية 0 الاسطواني والمخروطي تحت شدة ضوء مختلفة . من خلال النتائج تبين لنا ان شدة الضوء الملائمة للانتاج هي 1800 لوكس كما ان افضل معدلات انتاج الكتلة الحيوية كانت في المفاعلات الحيوية ذات القطر الصغير. بعد المقارنة بين نوعي المفاعلات الحيوة الضوئية تبين لنا ان المفاعل الحيوي الاسطواني اكثر انتاجا للكتلة الحيوية من المخروطي وفي الاخير نستنتج ان نوعية المفاعل الحيوي واختلاف شدة الضوءلا يؤثر على كمية الكلوروفيل و البروتين.

كلمات المفتاح : ارتروسبيرا بلاتونسيس ; مفاعلات حيوية ; كتلة حيوية ; شدة الضوء ; اليخضور ; بروتين.

Résumé

Le travail présenté dans ce mémoire concerne le développement des cultures d'une cyanobactérie non fixatrice d'azote appelée *Spirulina platensis* par optimisation des paramètres de croissance de cette dernière. La souche Spiruline a été cultivée dans le milieu Zarrouk, dans notre travaille nous avons déterminé la productivité de biomasse et évaluer les facteurs de croissance de spiruline telque le taux de croissance spécifique, taux en protéine et chlorophylle en utilisant deux type de photo-bioréacteur cylindrique et conique sous différente intensités lumineuses. A travers les résultats, on a pu constater que l'intensité lumineuse optimale de production est de l'ordre de 1800 lux. Les meilleurs taux de production de biomasse sont obtenus pour les photo-bioréacteurs de faible diamètre. La comparaison pour les deux formes montre que des taux de biomasse révèle une production plus élevée pour le photo-bioréacteur cylindrique 3,3 g/l. cependant l'intensité lumineuse et la forme de PBR n'ont aucun effet significative sur Les teneure en chlorophylle (valeurs 7,07- 7,25 mg/g et) et en protéines (54,86-et 61,21 %) au niveau cellulaire.

Mots clés : spirulina platansis ; photo-bioréacteur ; biomasse ; intensité lumineuse ; chlorophylle ; protéines

Abstrat :

The work presented in this thesis concerns the development of cultures of a non fixing - nitrogen cyanobacterium called Spirulina platensis by optimizing the growth parameters of the latter. Spirulina strain was grown in the Zarrouk medium through this work we determined the biomass productivity and evaluate growth factors spirulina such as a specific growth rate, chlorophyll and protein levels using two types of photo-bioreactor cylindrical and conical under different light intensities. Through the results, it was found that the optimum light intensity production is about 1,800 lux. The best rate of biomass production are obtained for photo-bioreactors small diameter. The comparison shows the two forms as revealed rate higher biomass production for the photo-bioreactor cylindrical 3.3 g / l. However, the intensity and shape of PBR have no significant effect on the teneure chlorophyll (values 7,07- 7.25 mg / g) and protein (54.86 and 61.21-%) in cell level.

Keywords: **spirulina platansis; photo-bioreactor; biomass; light intensity; chlorophyll; protein.**

.

Introduction

INTRODUCTION

Introduction

Aujourd'hui, les microorganismes photosynthétiques s'affirment comme l'une des alternatives convenables pour remplacer les énergies fossiles et suscitent un intérêt grandissant, en raison de leurs propriétés biologiques et métaboliques intéressantes.

Le terme « microalgues » s'est progressivement imposé dans les mondes scientifique et industriel. En effet, depuis quelques années, la biotechnologie microalgale est devenue un thème de recherche privilégié permettant d'explorer et d'exploiter l'énorme potentiel de ces microorganismes intervenant au sein de nombreux systèmes et dans de multiples secteurs industriels comme les domaines énergétique, pharmaceutique, alimentaire et plus récemment ,Plusieurs essais de cultures d'algue ont été réalisés dans des installations pilotes [1].

Depuis 1963, l'Institut Français de Pétrole a pu réussir la culture d'une algue bleue connue sous le nom de spiruline qui constitue actuellement des espèces la plus cultivée. Il s'agit d'une cyanobactérie filamenteuse capable de maintenir des taux de croissance élevés dans des milieux alcalins qui limitent la croissance d'espèces polluantes. Ceci permet l'exploitation dans des systèmes semi-extensifs dans des grands lacs où cette micro-algue pousse naturellement .

La spiruline est considérée comme une source alimentaire de haute qualité nutritive, en raison notamment de sa haute digestibilité et de sa teneur élevée en protéines (70%) et particulièrement en phycocyanine. Elle présente une composition chimique riche en vitamines (provitamines A, β Carotène, vitamine B1) et en acides gras insaturés: acide linoléique et linolénique [2].

De même, de nombreux travaux ont montré que la culture est douée d'une activité thérapeutique importante notamment dans le traitement du cancer, de certains infections d'origine microbienne, de la malnutrition protéino-énergétique et pour le renforcement du système immunitaire [3].

L'objectif de notre travail est l'optimisation des paramètres pour production de biomasse algale en deux type de photobioreacteur ,on va jouer sur trois facteur l'intensité lumineuse et la forme et diamètre des réacteurs .

INTRODUCTION

La première partie présente la spiruline : ses caractéristiques (physiques, biologiques et écologiques), son histoire, sa qualité nutritionnelle, qualitative et quantitative

Etant donnée que la spiruline est une algue photosynthétique alors 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 utilisée. La dernière partie illustre les résultats obtenus et leurs interprétations. Il est suivi d'une conclusion générale.

CHAPITRE I

SPIRULINE : ETUDE BIOLOGIQUE , VALORISATION ,CULTURE

I -1-Etude biologique

I -1-1) Historique de la spiruline

Les cyanobactéries, cyanobiontes ou encore cyanophycées selon les préférences, sont la famille d'algues bleues-vertes à laquelle appartient la spiruline, qui elle-même peut être indifféremment appelée Arthrospira sp. ou Spirulina sp..

Des traces de cyanobactérie ont déjà été détectées dans des stromatolithes (restes de filaments d'algue pétrifiés dans du calcaire) datant de quelques 3.7 milliards d'années, en Afrique du Sud [4].

La spiruline, bien que déjà décrite par Wittrock et Nordstedt en 1844, ne fut vraiment redécouverte qu'en 1940 au Tchad par un botaniste français du nom de Dangeard. Les Kanembous, tribu du Tchad, la consomment encore de nos jours sous le nom de Dihé.

Depuis, on a su par les archives mexicaines que la spiruline était aussi consommée du temps des Aztèques [5] ,bien avant l'arrivée des Espagnols, sous le nom de Tecuitlatl.

Depuis la mise en place de la culture en masse des microalgues à la fin des années 50, elle connaît un regain de popularité pour l'alimentation humaine.

Cependant, cette cyanobactérie resta une simple curiosité avant le 7ème congrès du pétrole en 1967 à Mexico, à l'occasion duquel des chercheurs de l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline, qui jusque là sont restés confidentiels.

Ce fut l'origine de sa première exploitation industrielle, en 1976, par la société Sosa Texcoco basée au Mexique. Depuis, plusieurs entreprises se sont implantées un peu partout : Siam Algae Company à Bangkok en 1979, Earthrise farm aux Etats-Unis en 1983 (le plus gros producteur actuel), Cyanotech Corporation à Hawaï, etc. En 1995, il existe une vingtaine d'exploitations industrielles dans le monde [6].Actuellement, leur nombre avoisine la trentaine.

La première culture artisanale de spiruline méritant vraiment cette appellation revient sans doute à Fox Ripley qui fut le premier à lancer cette activité en Inde en 1973, en collaboration

avec le Navsari Agricultural College.

Depuis, maints progrès ont été faites pour permettre et améliorer son exploitation dans toutes les régions du monde, à petite échelle. Comme nous le verrons ultérieurement, ces micro-projets sont en partie financés par des associations de lutte contre la malnutrition.

I -1-2) Qu ' est – ce que la spiruline ?

La spiruline est une cyanobactérie (0,3 mm de long), vieux comme le monde dont le nom scientifique est "cyanobactérie Arthrospira platensis" se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire bleu-vert, mobile, non ramifié et enroulé en spirale, qui vit de photosynthèse comme les plantes et prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe [7].

Ces caractéristiques biologiques font qu'elle situe à la frontière du monde bactérien et du monde végétal. Bactérie parce que appartenant au groupe des cyanobactéries, végétal parce que microalgue puisant son énergie à la photosynthèse, et dépourvue de cellulose [8],elle est incapables de réduire (fixer) l'azote de l'air, car elle est dépourvue des structures spécialisées appelées hétérocystes, contrairement à certaines autres cyanobactéries (Anabaena, Nostoc) [9]. En effet, elle est classée parmi les « algues bleu-vert », ce pour plusieurs raisons [9] :

- son habitat aquatique,
- la présence d'un système photosynthétique producteur d'oxygène,
- son aptitude à développer des biomasses importantes,
- sa morphologie proche de celle des algues,
- sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle).

Les cellules de cyanobactéries n'ayant pas de plastes individualisés. La microscopie électronique a permis de mieux connaître la structure et le fonctionnement de ces cellules, capsule, paroi cellulaire pluristratifiées, le chromoplasma apparaît comme un système membranaire comprenant des thylakoïdes ; la spiruline ne renfermant pas de chloroplastes, ce sont ces thylakoïdes qui constituent les sites de photosynthèse, les ribosomes et des fibrilles de la région de l'ADN et de nombreuses inclusions [10] (fig **I–1**).

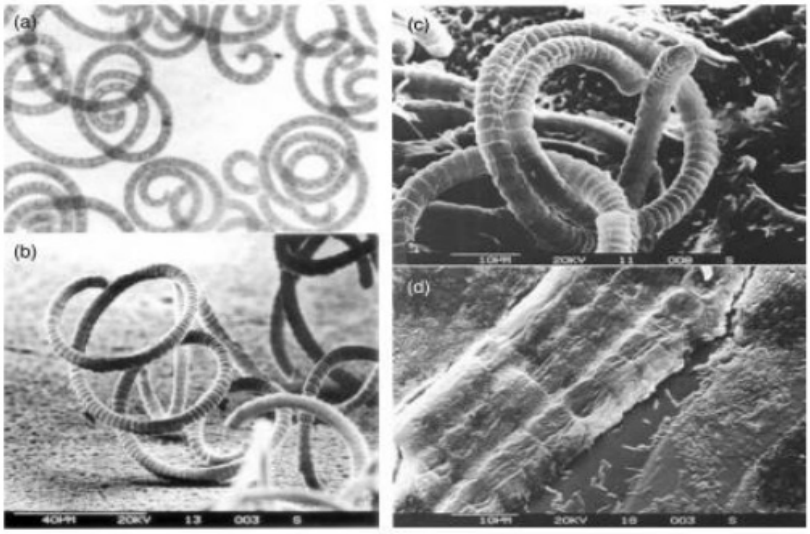


Figure I–1: morphologie de la spiruline: (a)- sous microscope optique (b) Micrographie électronique *d'Arthrospira platensis* (c)- Micrographie électronique d'un trichome *d'Arthrospira platensis*(d) Micrographie électronique de non axénique de S. *Platensis [10]*

I -1-3) Taxonomie

D'un point de vue taxonomique, selon la classification dans le Manuel de Bergey de Bactériologie Determinative", la spiruline (*Arthrospira)* appartient au groupe des cyanobactéries [11], qui on la classe dans le tableau suivant :

Tableau I– 1 : systématique de la spiruline [6]

RENGE	*MONERA*
SOUS –RENGE	*PROCARYOTA*
PHYLUM	*CYANOPHYTA*
CLASSE	*CYANOPHYCEAE*
ORDRE	*NOSTOCALES*
FAMILLE	*OSCILLATORIACEAE*
GENRE	*ARTHROSPIRA*
ESPECES	*APLATENSIS*

I -1 -4) Reproduction

Le cycle biologique de la Spiruline selon Ceferri et al (1983) représenter dans la

(Fig **I–2**) : 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 [12].

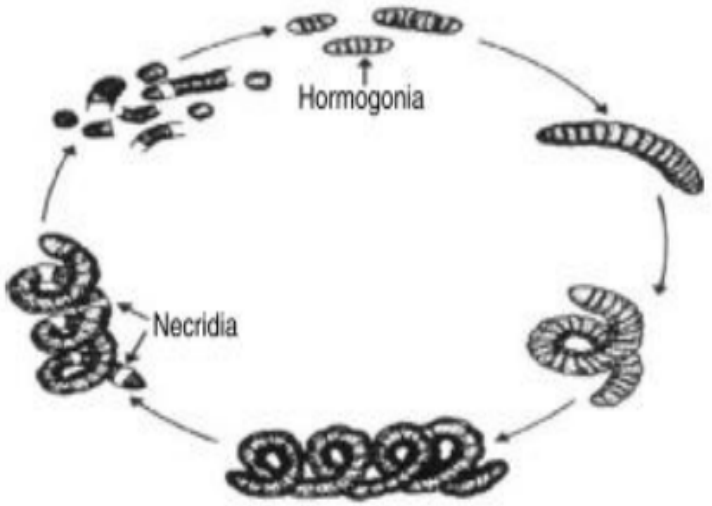


Figure I– 2 : Cycle biologique de la Spiruline [10]

I -1-5) Les pigments

La Spiruline contient des chlorophylles dont la chlorophylle a (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le β-carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine.

Les teneurs en pigments de Spirulina platensis apparaissent dans le Tableau (I–2). Ces pigments sont responsables de la couleur caractéristique de certaines espèces de flamants qui consomment cette cyanobactérie dans l'African Valley.

Tableau I– 2 : Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de Spirulina platensis [13].

Pigments	Teneur en mg/10g
Chlorophylles totales	115
Chlorophylle a	61 -75
Caroténoïdes (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500-2000
Phycoérythrine (rouge)	2900-10000

Les teneurs en phycocyanine et phycoérythrine varient selon la souche et les conditions de culture. En effet, les teneurs en phycobiliprotéines (qui captent l'énergie lumineuse vers les photosystèmes) sont régulées par l'intensité de l'éclairement.

Le tableau (I–2) montre que la cyanobactérie Spirulina platensis est une excellente source de phycocyanine. D'après Vonshak (1997), la fraction protéique pourrait contenir jusqu'à 20 % de phycocyanine. La phycocyanine aurait une activité antitumorale, elle induirait un mécanisme d'apoptose (autodestruction) des cellules cancéreuses [14],Elle aurait aussi une activité antioxydante [15]. Elle aurait également un rôle d'hépato protection [16]. En outre, la forte teneur en ce pigment pourrait être d'un grand intérêt industriel.

D'après l'étude de Fedkovic et al. (1993) les antioxydants comme le β-carotène contenus dans la Spiruline permettraient d'inhiber à la fois l'effet mutagène et l'effet régulateur induit par les radicaux libres, préservant ainsi nos tissus.

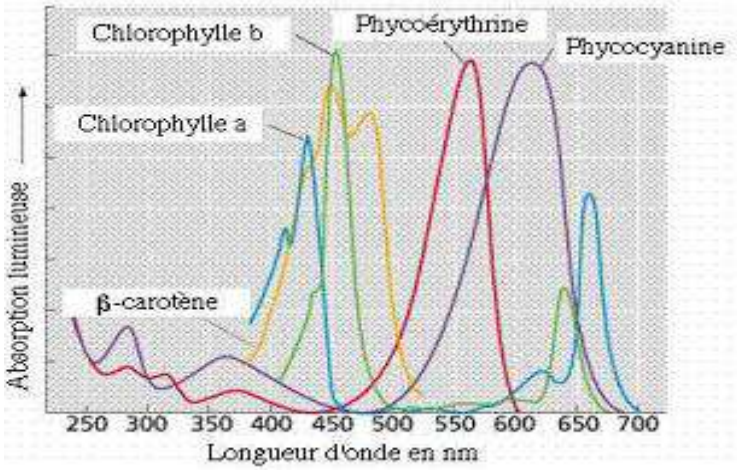


Figure I -3 : Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse [17]

I -2) L'interet de spiruline :

I– 2-1) l'aspect nutritionnel

La spiruline est un aliment naturel qui a des valeurs nutritionnelles exceptionnelles en protéines, lipides, glucides et vitamines. Sa composition chimique varie en fonction de la souche et le milieu de croissance, La composition biochimique de la spiruline a été analysée depuis 1970) [18].

I -2-1-1) Protéine

La composition biochimique de la spiruline a été analysée depuis 1970, montrant une forte concentration de protéine, 60 à 70% de son poids sec, Toutefois, dans le cas d'enfants souffrant de malnutrition, il serait réaliste d'inclure jusqu'à 10 g de spiruline dans la ration quotidienne, ce qui peut représenter, suivant le poids de l'enfant, plus de 50% de l'apport protéique recommandé [19].

La valeur nutritive est liée à la qualité de l'acide aminé, qui contient des acides aminés essentiels, y compris la leucine, l'isoleucine et la valine.

Un apport optimal d'acides aminés essentiels peut être obtenu en consommant la spiruline en complément de céréales telles que le riz, le blé et le millet, ou des graines oléagineuse [9].

I -2-1-2) Glucide

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%) [10].

I -2-1-3) 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 [20].

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols [21].

La spiruline est considérée comme l'une des meilleures sources alimentaires connues d'acide γ-linolénique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes, fort chères et non chauffées (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) [9].

I -2-1-4) 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 [22].

I -2-1-5) 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 [9].

I -2-1-6) Polyphénols

Parmi les polyphénols qui se trouve dans la spiruline, astaxanthine, la zéaxanthine, la lutéine, échinénone, oscillaxanthin et myxoxanthophylle [23]. Ces polyphénol a une propriété d'ontioxydant les plus soluble dans l'eau [24].

I -2-2) L'aspect 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 micronutriments. 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 [25].

En 1995, une étude menée à Kerala sur des preneurs de chique a montré que chez 45% de ceux ayant avalé 1g de spiruline par jour pendant un an a été constaté la régression d'un cancer oral, contre 7% chez ceux qui ont juste pris un placebo.

Pourtant après 1an de non-prise, 45% des lésions cancéreuses réapparaissent . La spiruline agit donc à moyen terme et s'avère plus efficace en traitement continu [26].

En 1996, des chercheurs japonais découvrent et baptisent « Calcium-spirulan » un extrait aqueux de spiruline particulièrement riche en calcium et en soufre. Le calcium-spirulan empêche la pénétration de la membrane cellulaire par certains virus comme le VIH-1, le Herpes Simplex, le virus de la grippe de type A et le virus de la rougeole. Les essais effectués sur des hamsters contaminés par l'Herpès virus létal ont montré un taux de rétablissement très prometteur [27].

Les polysaccharides et la phycocyanine de la spiruline sont aussi connus pour leur effet immunostimulant. Plusieurs produits pharmaceutiques destinés au soin des blessures contiennent de la spiruline. Une substance anti-bactérienne et anti-fongique a été identifiée en particulier chez Spirulina platensis ; d'autres auteurs mentionnent que c'est une propriété commune à toutes les spirulines. D'autres applications médicales de ces substances antibiotiques sont à envisager. 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 [28].

I 2-3) l'aspect 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 [2].

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 ; chez la carpe Koï, ces pigments renforcent les motifs rouges et jaunes, tout en laissant un blanc pur brillant. Pour ce faire, son régime alimentaire doit inclure entre 5 et 20% de spiruline [29].

Toutefois, des recherches plus détaillées doivent être effectuées afin de pouvoir affirmer la réelle efficacité de la spiruline dans ce domaine. On l'utilise aussi dans la production de proies vivantes comme l'Artemia et les daphnies.

I–3) Toxicologie

La Spiruline n'est pas toxique car elle n'a pas les gènes qui assurent la synthèse des toxines de cyanobactéries. 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 [30].

I -4) Culture de la spiruline

I -4-1) Condition de culture

Il existe trois facteurs déterminants pour la culture de spiruline: la température, la lumière et le pH. Les microalgues sont sensibles à toute variation brutale des paramètres de culture. D'autres facteurs moins importants seront aussi à prendre en compte comme l'agitation du milieu par exemple.

I -4-1-1-) La température

La température est le paramètre qui va contrôler la vitesse des réactions. Celle-ci a tendance à fortement augmenter sous serre ou en plein soleil et crée des problèmes d'évaporation du milieu de culture. Il faudra penser à réguler ce paramètre .

La température optimale de croissance de la spiruline, est situe dans l'intervalle 35-38 °C, tandis que la le minimum est situe de 15-20°C [30].

I - 4 -1-2) La lumière

La lumière est la source d'énergie primaire des organismes réalisant la photosynthèse. Celle-ci est indispensable. Pour les microalgues les durées et les périodes d'ensoleillement seront déterminantes.

La spiruline possède un optimum d'irradiante, au delà, un excès de lumière peut être nuisible. A partir d'un certain seuil, il y aura photoinhibition et destruction des cellules par la lumière [7].

I -4 -1-3) Le pH

La culture de la spiruline le pH sera entre 8.5 et 10.5 [7], naturellement, la spiruline a tendance à alcaliniser le milieu. En effet le CO2 dissous dans l'eau, une fois mobilisé par la spiruline, libèrent des ions carbonates (CO_3^{2-}) qui en s'hydrolysant vont libérer

des ions OH^- [31].

I -4-2) Milieu de culture

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 [32], qui sont riches en carbonate de sodium (Na2CO3), bicarbonate de sodium (NaHCO3), divers minéraux et des source d'azote fixé. Généralement, le milieu préfére pour la spiruline est le milieu Zarouk (1966) et qui est typiquement composé d'eau, le carbonate/bicarbonate de sodium, une source d'azote, le phosphore, le fer et d'autres minéraux de trace

- **La salinité**

L'un des paramètres les plus importants pour une culture de spiruline, est la qualité de l'eau utilisée, de façon de leur composition chimique. Les limites de salinité d'eau, est généralement assez larges, mais on se place souvent vers les minima, cela pour des raisons d'économie et de productivité, avec une salinité totale de 13 g/l ,avec zone optimale de développement qui se situe entre 22 et 62 [32].

Vonshak (1997) a démontré que la Spiruline exposée à haute concentration en NaCl non seulement entre immédiatement en cessation de croissance, mais sa biomasse diminue pendant au moins 24 h après cette exposition, car l'activité photosynthétique de la Spiruline diminue sous le stress de la salinité, même si elle croît continuellement dans l'environnement salin et s'adapte à ce milieu. Cette diminution est associée à une modification de la demande cellulaire en énergie lumineuse, c'est à dire qu'elle a besoin de moins de lumière pour saturer la photosynthèse [31] .

CHAPITRE II

la photosynthèse et le photobioréacteur

II– 1) La photosynthèse

Près de la moitié de l'activité photosynthétique sur Terre est réalisée par des organismes aquatiques qui ne représentent pourtant que 1 % de la biomasse totale. Ces micro-organismes, les micro-algues, constituent le phytoplancton et sont à l'origine de 90 % de la production primaire aquatique [33].

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.

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 suivante :

$$n CO_2 + 2n H_2O + \text{lumière} \xrightarrow{\text{Chlorophylle a}} [CH_2O]_n + H_2O + O_2 \qquad (1)$$

Pour se faire la photosynthèse se réalise en deux grandes phases, la phase claire et la phase sombre.

La phase claire :

est un 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.

II -1-1) phase claire (les réactions photochimiques)

C'est au sein de la membrane des thylakoïdes que se trouve l'appareil photosynthétique. Il est composé de pigments photosynthétiques associés à des photosystèmes I et II (PSI et PSII), d'accepteurs et de donneurs d'électrons. Le PSI et PSII sont aussi appelés respectivement PS 700 et PS 680.

Les photosystèmes sont des complexes au sein desquels sont associées des protéines et des pigments. Le PSII comporte trois domaines : une antenne, un centre réactionnel et un complexe d'oxydation de l'eau. Et le PSI comporte une antenne et un centre réactionnel.

Les pigments photosynthétiques sont la chlorophylle a, b, c et d en fonction des espèces d'algues. Les chlorophytes ne contiennent que des chlorophylles a et b. La chlorophylle a est un pigment actif car elle capte et convertit l'énergie lumineuse en énergie chimique. Alors que la chlorophylle b est un pigment surnuméraire car elle ne fait que transmettre les photons à la chlorophylle a. Il existe d'autre type de pigments surnuméraires chez les algues vertes, appelés caroténoïdes qui en plus de capter la lumière sont impliqués dans la dissipation de l'excès d'énergie lié à un excès de lumière [34] .Une fois que l'énergie lumineuse a atteint la chlorophylle a des centres réactionnels des photosystèmes, celle-ci passe à un état excité et expulse alors un électron. A partir de là va se dérouler le transport des électrons au travers de différents accepteurs de l'appareil photosynthétique jusqu'à un accepteur final permettant la production de pouvoir réducteur NADPH. En parallèle la réaction de photosynthèse permet aussi la synthèse d'ATP.

Il existe deux types de transport des électrons: cyclique et non cyclique.

II -1-1-1) Transport non cyclique des électrons :

Au sein du photosystème II, l'antenne collectrice de photon se compose de chlorophylle a et b, de caroténoïdes et de protéines. Elle capte les photons et les amènent jusqu'au centre réactionnel, qui contient une paire de molécule de chlorophylle a dont la longueur d'onde du pic d'absorption est 680 nm. Lorsque la molécule de chlorophylle a est excitée un électron est libéré. Cet électron est transporté dans un premier temps jusqu'à des plastoquinones. Elles le cèdent par la suite à un complexe appelé cytochrome b6_f qui le transfère à une plastocyanine. Enfin, celle-ci cède l'électron au PSI.

En parallèle de cette réaction à lieu la scission d'une molécule d'eau, catalysée par

le complexe d'oxydation de l'eau (OEC), lié au PSII :

$$2H_2O \longrightarrow O_2 + 4e^- + 4H^+ \quad (2)$$

Cette réaction permet la libération d'électron et de protons et la production d'oxygène. Les électrons formés par l'oxydation de l'eau, vont remplacer les électrons perdus au sein du PSII.

L'antenne collectrice du PSI se compose de chlorophylle a et b, ainsi que de caroténoïdes. Elle transmet au centre réactionnel les photons. Le centre réactionnel contient une paire de molécule de chlorophylle a dont la longueur d'onde du pic d'absorption est 700 nm. L'électron libéré au sein du centre réactionnel est transporté jusqu'à la ferrédoxine. La ferrédoxine va donner cet électron à la ferrédoxine NADP-oxydoréductase. Il va alors y avoir la réduction de NADP+ en Nicotinamide adénosine diphosphate (NADPH), aussi appelé pouvoir réducteur. Ce pouvoir réducteur joue un rôle important dans de nombreuses réactions métaboliques.

L'électron perdu au sein du PSI va être remplacé par l'électron précédemment expulsés par le PSII.

La Figure (II- 1) représente le transport acyclique des électrons au sein de la membrane des thylakoïdes. Lorsque les photons atteignent les molécules de chlorophylles au sein des PS 680 (PSII) et PS 700 (PSI), celles-ci passent d'un état stable à un état excité (flèches rouges) et libèrent des électrons qui vont permettre la synthèse d'ATP et NADPH.

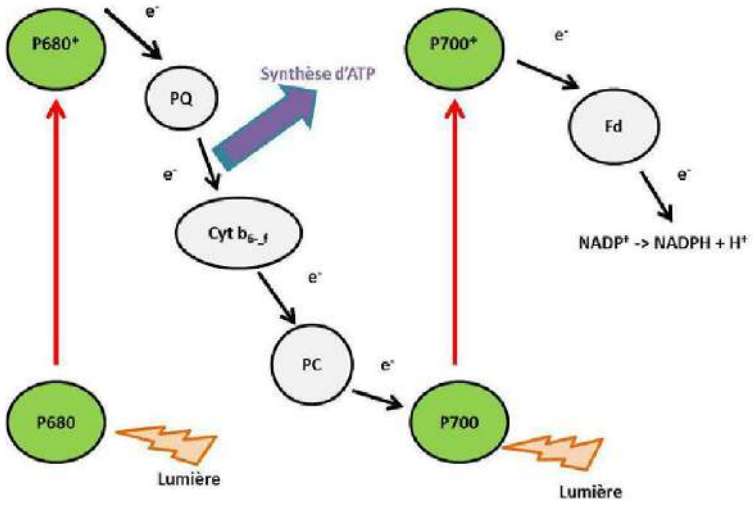


Figure II– 1 : Schéma du transport acyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine [36].

Le transport des électrons via la réaction de photosynthèse, libère de l'énergie qui va permettre la synthèse d'adénosine-tri-phosphate (ATP) au niveau du complexe ATP synthase associé à la membrane des thylakoïdes. Le transport des électrons génère une force proton-motrice au travers du complexe de l'ATP synthase qui permet le fonctionnement de l'enzyme et donc la synthèse d'ATP à partir d'adénosine di-phosphate (ADP) et de phosphate inorganique (Pi). L'ATP est une molécule à haut pouvoir énergétique se retrouvant dans tous les organismes. Elle fournit de l'énergie pour la croissance cellulaire mais également pour la maintenance des processus physiologiques des organismes [35].

Lors de cette phase de la photosynthèse, on a donc formation d'ATP et de NADPH. Ces deux molécules rentreront en jeux lors de la fixation du CO2.

II -1-1-2)Transport cyclique des électrons

Lors du transport cyclique des électrons, il n'y a pas synthèse de NADPH mais uniquement d'ATP. Les électrons expulsés par le PSI ne sont pas dirigés vers la production de NADPH mais utilisés pour augmenter la force proton motrice qui permet la synthèse d'ATP (Figure II– 2). La cellule n'ayant pas les mêmes besoins en ATP et en NADPH,

ce mécanisme lui permet d'adapter la synthèse de ces composés en fonction de ses besoins physiologiques [36].

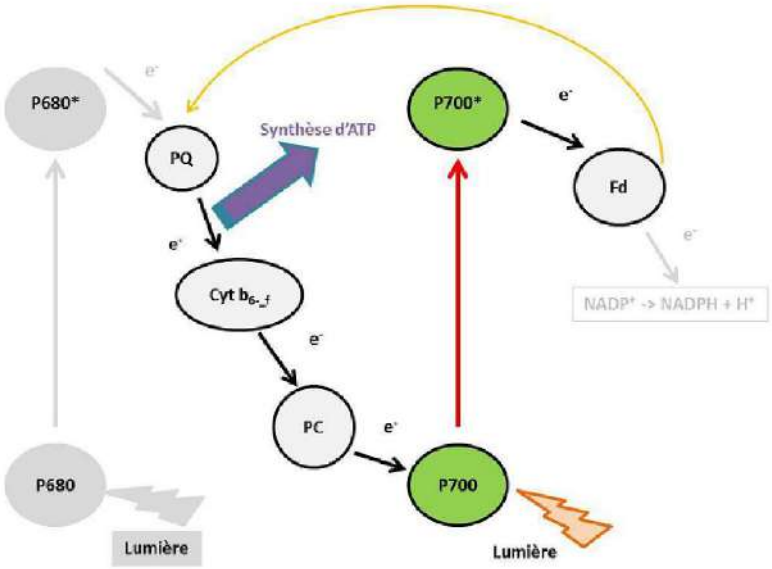


Figure II– 2: Schéma du transport cyclique des électrons. P680 : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, Cyt b6_f : cytochrome b6_f , PS700 : photosystème I, Fd : ferrédoxine [36]

La figure (II-2) montre le transfert des électrons et des protons au sein de la membrane des thylakoïdes lors de la réaction photochimique de la photosynthèse. Lorsque les électrons arrivent au niveau de la ferrédoxine, celle-ci les distribue soit :

- Au NADP+ . Le transport est alors dit acyclique et s'accompagne d'une dissociation de l'eau et de la synthèse de NADPH et d'ATP
- Au cytochrome b6_f qui les transferts à nouveau aux plastoquinone. Le transport est alors cyclique et l'ATP est la seule molécule synthétisée.

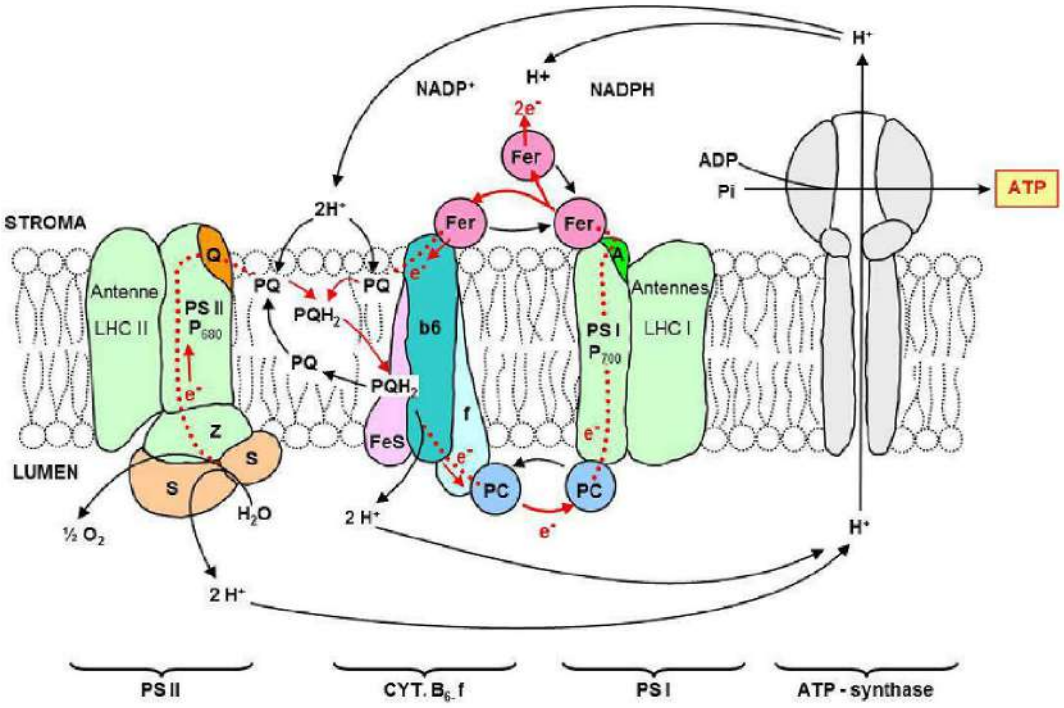


Figure II– 3 : Complexes macromoléculaires et transferts d'électrons et de protons au niveau de la membrane du thylakoïde. PSII : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine, b6_f : cytochrome b6_f , PSI : photosystème I, Fer : ferrédoxine [37].

II -1-2) phase sombre (la fixation du CO2 : le cycle de Calvin)

Dans la cellule CO2 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:

$$n CO_2 + 2\,\text{NADPH} + 2H^+ + 3\text{ATP} \longrightarrow (CH_2O)_n + H_2O + 2\text{NAD}P^+ + 3\text{ADP} + 3p_i \qquad (3)$$

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 3-phosphate (Figure 8). 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 [33].

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–2) 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 nouveaux composés ou comme réserves [33].

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 [38].

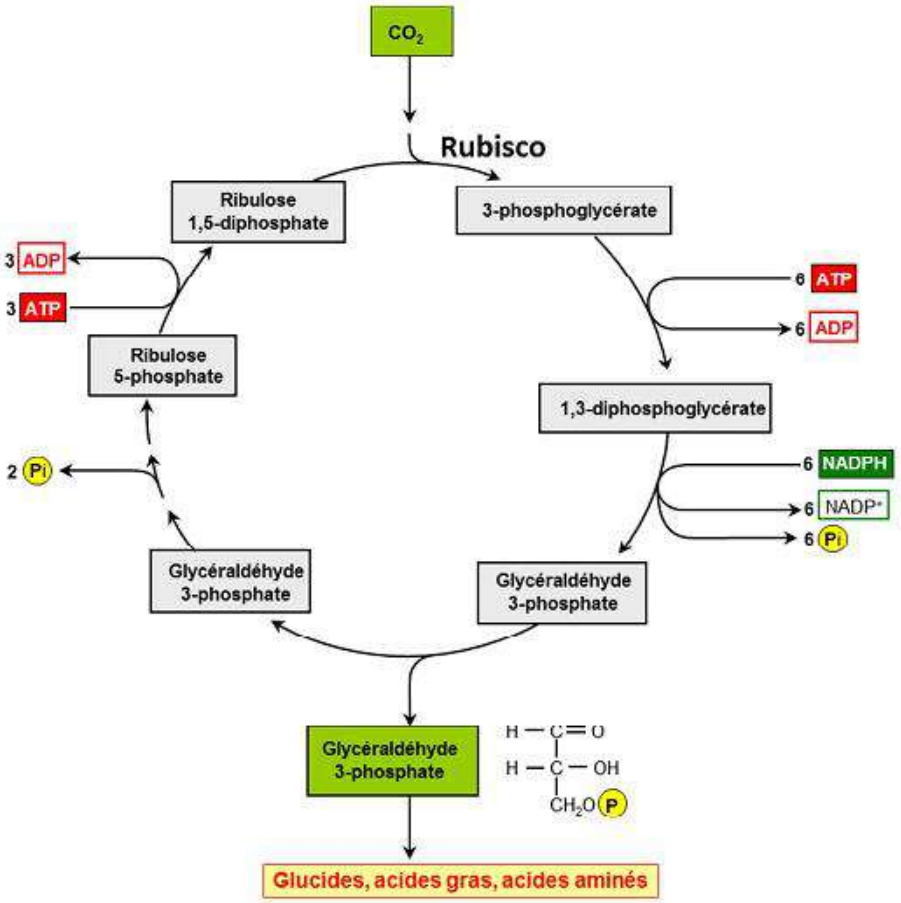


Figure II– 4 : Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3- phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté [33].

II -1-3) Rendement photosynthétique des micro-algues

Le choix des micro-algues pour faire du biocarburant est basé sur plusieurs critères, dont le rendement photosynthétique. En effet, 1 g de biomasse algale produit environ 1 g de glucides par hectare, soit, pour l'ensemble de la végétation terrestre, un gain annuel d'environ 73 milliards de tonnes de carbone, ce qui équivaut à vingt fois la production mondiale de charbon, par contre les micro-algues sont d'une plus grande efficacité photosynthétique soit 10 à 100 fois plus que les plantes.

L'utilisation des micro-algues pour la production d'algocarburants nécessite à la fois une culture intensive d'algues et une maitrise des conditions de culture pour garantir un rendement en biomasse optimum et une production de lipide suffisamment élevée. Durant notre projet pro, nous avons donc du nous pencher sur les modes et les paramètres de culture afin de comprendre certains enjeux et limites de l'utilisation d'algues pour la production de biocarburants.

II– 2) Generalites sur les photobioreacteurs :

II -2-1) Qu'est ce qu'un photobioréacteur ?

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

La notion de photobioréacteur 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 photobioréacteurs ont été réalisés et expérimentés avec des formes géométriques diverses [39].

Ils offrent différents avantages: ils permettent la culture des souches micro algales sensibles qui ne pourraient pas faire face aux microorganismes polluants installés dans les systèmes ouverts, les productivités sont sensiblement plus élevées et peuvent être obtenues par un ajustement des conditions optimales de culture, les molécules destinées à la fabrication de produits de beauté ou les soins de santé peuvent être produites en respectant les normes de pureté et sûreté du produit.

D'un point de vue industriel, les photobioréacteurs entrent directement en compétition avec les fermenteurs où se développent des organismes tels que les bactéries ou des levures. Outre l'absence de besoin en lumière, ces derniers possèdent l'avantage physiologique

d'avoir des temps de doublement de l'ordre de quelques dizaines de minutes, contre environ 24 heures pour les micro algues [40].

II -2-2) Les deux formes géométriques les plus courantes

Abordons en premier la géométrie du photobioréacteur 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 photobioréacteurs se dégagent au point de vue géométrique : les photobioréacteurs plats (géométrie plane) et les photobioréacteurs 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 photobioréacteurs sera dressé : géométrie, dimensions, volumes, épaisseur de la culture, système d'éclairage et type de mise en circulation utilisé pour la culture [39].

II -2-2-1) Les photobioréacteurs 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.

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 [41].

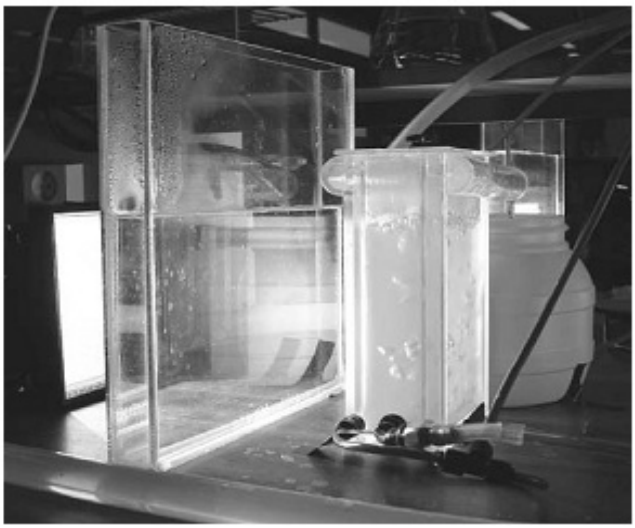


Figure II– 5 : Géométrie du photobioréacteur plat [41]

II -2-2-2) Les photobioréacteurs cylindriques

Considérés par plusieurs auteurs comme étant les plus adéquats pour la culture microalgale, car ils se prêtent bien aux contraintes des photobioréacteurs (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 réflectance.

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 [40].

II -2-2-2-1) Les photobioréacteurs de type colonne

Le photobioréacteur cylindrique de type « scobalit » est un système classique qui est très répandu dans l'aquaculture française. Ce photobioréacteur 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 (Fig II–6) et sont éclairés latéralement par des tubes fluorescents [42].



Figure II– 6: Photobioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en écloserie[42].

II -2-2-2-2) Les photobioréacteurs de type annulaire

Les photobioréacteurs annulaires sont des photobioréacteurs 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 .

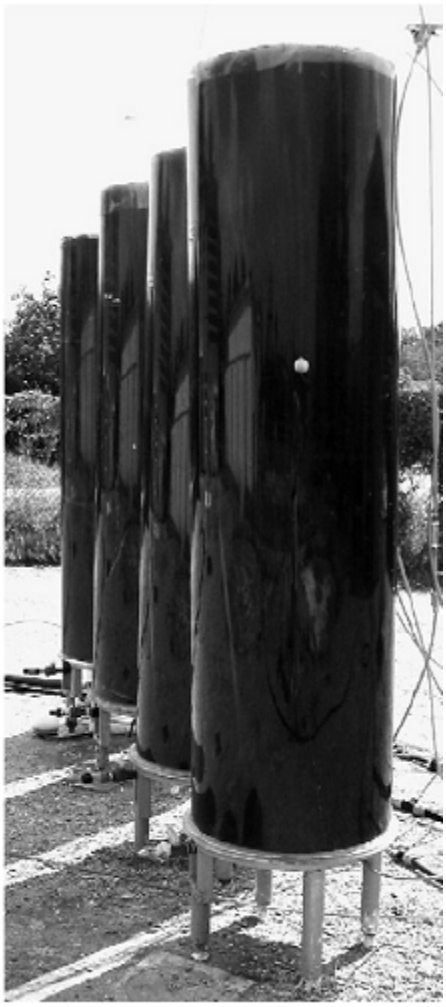


Figure II– 7 : Photobioréacteurs annulaires verticaux [43]

II -2-2-2-3) Les photobioréacteurs tubulaires agencés horizontalement

La configuration tubulaire se présente sous forme de boucles, ou serpentins, qui laissent passer la lumière entre les interstices des boucles (Figure II– 8) [44].

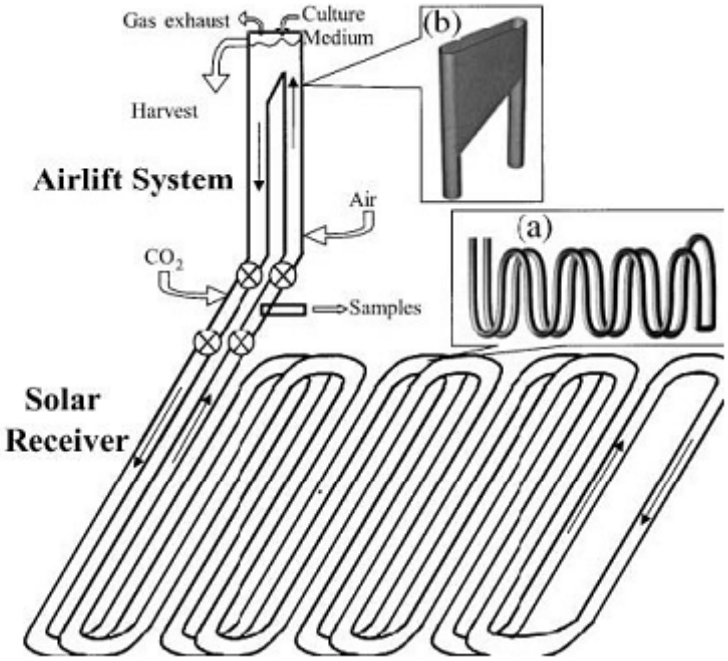


Figure II- 8 : Détails du système de culture solaire à boucle (a) et la zone de dégazage (b)

[44]

II -2-2-2-4) Les photobioréacteurs tubulaires agencés verticalement

Les photobioréacteurs 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 200 mm).

Le photobioréacteur « Biocoil » est un photobioréacteur tubulaire dont les tubes sont enroulés autour d'une structure verticale (Figure II-9), 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 [45].



Figure II– 9: Photobioréacteur « Biocoil » inventé par Lee Robinson [45]**.**



Figure II -10 : Photobioréacteur tubulaire pour la culture de Spirulina spp. en extérieur utilisant une surface réfléchissante [46].

II -2-3) Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs

II -2-3-1) Eclairage

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

Deux facteurs sont à distinguer :

- ✓ d'une part, la quantité et la qualité de la lumière émise par le dispositif d'éclairage (intensité, spectre d'émission des sources lumineuses et nombre de ces sources).
- ✓ d'autre part, la quantité et la qualité de la lumière réellement disponible pour les microalgues au sein du photobioréacteur : celle-ci étant différente du flux lumineux incident du fait des pertes par absorption et diffusion qui ont lieu en traversant la culture et les parois du réacteur.

La distribution hétérogène de l'irradiance selon l'épaisseur de la culture conduit à des cinétiques locales de croissance en surface, du fait d'une intensité lumineuse trop forte, une zone de photoinhibition peut apparaître et entraîner la dégradation des photosystèmes I et II (PSI et PSII) des antennes collectrices de la chlorophylle a et l'apparition de pigments accessoires, en profondeur, des effets d'auto-ombrage peuvent conduire à une photoalimentation avec un manque d'énergie ou même à un basculement vers un mécanisme respiratoire (Figure II -11) [47].

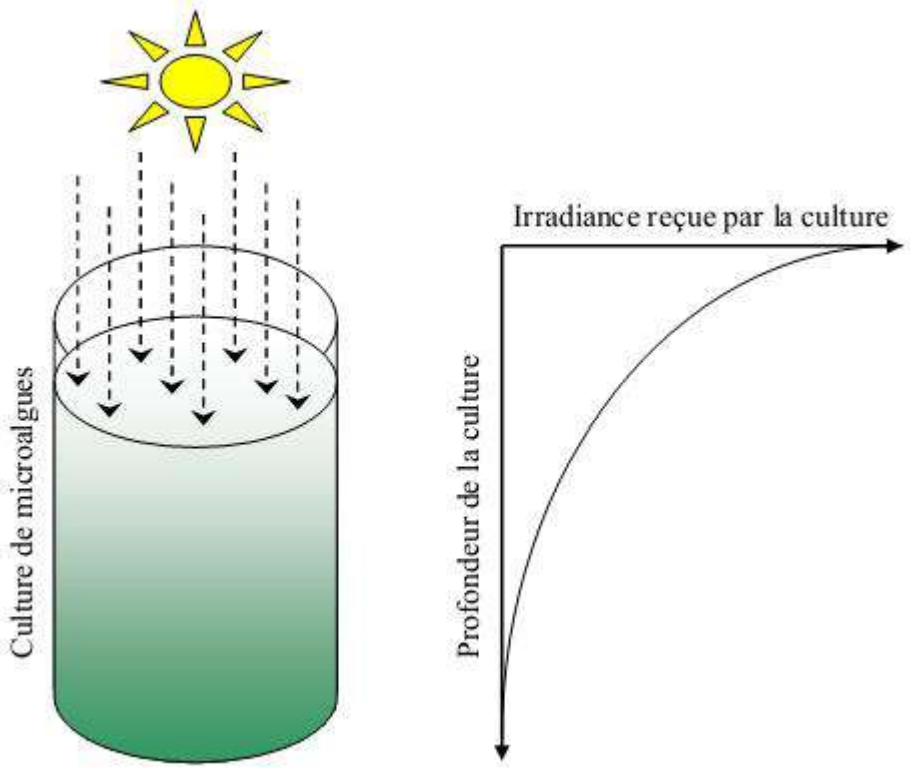


Figure II -11 : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de microalgues [47].

L'éclairage des photobioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire : les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiance solaire (Figure12) [48].

.

Une variante consiste, pour certains photobioréacteurs cylindriques, à placer les photobioréacteurs sur des surfaces réfléchissantes (Figure II -10) afin d'accroître, par réflexion, l'incidence du rayonnement [49].

D'autres moyens ont aussi été expérimentés, utilisant la lumière naturelle [50] , aussi bien que celle artificielle au sein des photobioréacteurs plat ou cylindrique : ils utilisent un harnais de fibres optiques (ou réseau de gaines transparentes) disposé au centre de la chambre du réacteur. Ce système de conduction lumineuse accentue la diffusion de la lumière au cœur du milieu de culture [51].

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

II -2-3-2) Angle d'inclinaison

Pour les photobioréacteurs plats et cylindriques [52], ont réalisé des études sur l'inclinaison idéale des photobioréacteurs en fonction du degré d'incidence des rayons du soleil.

L'optimisation tient à la possibilité de modifier l'angle d'inclinaison de façon à obtenir une capture maximale de l'irradiance solaire [53].Par le jeu de la diffusion de la lumière et en fonction du degré d'inclinaison des rayons solaires, il est possible d'éclairer l'ensemble des parois du photobioréacteur afin d'en optimiser la production selon les saisons [44]. Ainsi, Sanchez Miron et al. (1999) obtiennent un doublement du flux lumineux capté.

CHAPITRE III

MATÉRIELS ET MÉTHODES

III) Matériel et méthodes

III - 1) Matériel

III -1-1) matériel biologique :

Le prélèvement de la souche mère de spiruline a été effectué dans la 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, le transport des échantillons étant assuré d'une manière à éviter tout contact avec l'air extérieur dans des récipients stériles et à basse température (glacières) [54].

III -1-2) Conception de culture en batch :

Les cultures de Spiruline sont réalisées au laboratoire de Hall Technologie de medea, maintenues dans des conditions d'éclairement, de température et de débit d'air identiques. Un éclairage permanent est assuré à l'aide d'une lumière blanche par 2 tubes fluorescents de marque Torch et d'une intensité lumineuse de 3000 lux. La température est maintenue à une valeur optimale de (34±1°C) à l'aide de thermostats réglables. L'agitation des cultures est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air et par agitateurs magnétiques. Les cultures témoins sont réalisées sur milieu synthétique décrit par Zarrouk en 1966. Ce milieu contient tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de Spirulina Platensis à des concentrations répond aux besoins de l'algue [55].

on utilise deux type de réacteur, les erlenmeyer et les réacteurs cylindrique en verre, trois paramètres pour l'étude, l'intensité lumineuse et la forme et diamètre de réacteur .



Figure III- 1 : les déférents photobioreacteurs préparer au niveau de laboratoire

Tableau III-1: Les paramètres expérimentale sélectionnée pour étude

les facteurs					
la forme	cylindrique (18 ml ; 250 ml ; 500 ml)			conique (250 ml ; 500 ml)	
La lumière (LUX)	1000	1200	1500	1800	2000

Formule de calcule des surfaces :

Le calcule de surface et de volume des deux forme de photo-bioréacteur cylindrique et conique sont calculé par les formule mathématique suivante :

PBR cylindrique :

$$S=\pi \star D \star H$$

$$V=\pi \star \frac{D^2}{4} \star H$$

PBR conique :

$$S' = \pi \star (D_1 + D_2) \star \frac{H}{2}$$

$$V' = \frac{1}{3} \pi \star (r_1^2 + r_2^2 + r_1 \star r_2) \star H$$

Tel que

H :la hauteur de la photobioreacteur

D : le diametre de PBR cylindrique

D1 : le petit diamètre de PBR conique

D2 : le grande diamètre de PBR conique

r1 : le petit rayon de PBR conique

r2 :le grand rayon de PBR conique

Tableau III- 2 : Caractéristiques des réacteurs utilisés dans les expériences

Type de réacteur	**Le volume de suspension (ml)**	**Diamètre (cm)**	**Surface de PBR(cm^2)**
Flacon cylindrique de 500ml	350ml	6	258.10
Flacon cylindrique de 250 ml	200 ml	4.5	91.84
Tube de18ml	12ml	1.7	58.71
erlenmeyer de 500ml	400ml	D1=10 ; D2=7	226.86
erlenmeyer de 250ml	250ml	D1=8,5 ; D2=5,6	126 .18

III -1-3) Le milieu zarrouk :

Généralement, le milieu utilisé est basé sur le milieu original de Zarouk (1966) et qui est typiquement composé d'eau, le carbonate/bicarbonate de sodium, une source d'azote, le phosphore, le fer et d'autres minéraux de trace [22].

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

Le milieu de culture de la spiruline doit être apporté tous les éléments suivants [7] :

- bicarbonate de sodium (NaHCO3): est la source d'alcalinité, qui peut aussi apporté par le natron ou l'eau de cendre
- le phosphore (P): est indispensable pour la photosynthèse, apporté par n'importe quel Ortho phosphate soluble.
- l'azote : est un constituant important des acides aminés, qui apporté principalement par l'azote minérale $NaNO_3$ atmosphérique, et aussi l'urée.
- le carbone(C) : c'est la nourriture principale de la spiruline, qui apporté principalement par le gaze carbonique, et aussi le sucre.
- les métaux : essentiellement le fer, le bore et le magnésium…

Tableau III- 3 : composition de milieu ZARROUK [56]

Elément chimique en g/l	
NaHCO3	16.8
K2HPO4	0.5
NaNO3	2.5
K2SO4	1.0
NaCl	1.0
MgSO4, 7 H2O	0.2
CaCl2	0.04
FeSO4, 7 H2O	0.01
EDTA (acide éthylène diamino-tétra-acétique)	0.08

A 1 L de la composition ci-dessus, on a ajouté 1 mL de chacune des solutions d'oligo-éléments A_5 et B_6.

Tableau III -4 : composition de la solution A_5 (g /l) [56]

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

Tableau III -5 : composition de la solution B_6 (en mg/l) [56]

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

Ce milieu présente l'intérêt de s'adapter à presque toutes les souches de spiruline et simplifie considérablement le travail de l'algoculteur. Toutefois, ses constituants sont chers et ne sont pas toujours faciles à trouver. Plusieurs alternatives offrent des rendements satisfaisants ;
nous ne pourrons pas les détailler tous, mais il faut savoir qu'on peut utiliser la lessive de cendres de bois ou encore le bicarbonate naturel (natron) additionnés d'urine ou de nitrate de Chili comme milieux de culture [57].

III -2) Les méthodes :

- **Ensemencement**

Dans un site dépourvu de la spiruline, ou pour redémarrer avec une nouvelle souche, 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 [7].

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 µm.

- **Agitation**

Elle est nécessaire pour assurer une bonne culture, au moins (2-4) fois par jour, qui augmente avec l'intensité de la lumière, cela permet d'assurer :

- L'homogénéisation de la culture
- répartition de l'éclairage
- évité la formation des bous minéraux et aussi l'agglomération des filaments de la spiruline.

Le mode d'agitation peut être : manuelle avec un balai pour les bassins ouverts ou électrique avec une pompe d'aire pour les bioréacteur fermer.

III -2-1) Mesure de la matière sèche

La mesure de la matière sèche est classiquement utilisée pour déterminer la concentration en biomasse microalgale. Cette méthode nécessite des volumes d'échantillons importants (de 50 à 100 ml) ce qui la rend non-envisageable comme mesure de routine dans des réacteurs de petit volume. Des plus, la mesure peut être faussée à cause de la présence de cellules mortes ou de polysaccharide produits par la microalgue. Dans notre étude, cette mesure est effectuée seulement en fin de culture.

La matière sèche (MS) en g/l est calculée en utilisant la formule suivante [58] :

$$\mathbf{Ms} = \frac{\boldsymbol{poids}\ (\boldsymbol{filtre}+\boldsymbol{culot}\ \mathbf{sec}) - \mathbf{poids(filtre)}}{\boldsymbol{volume\ d'échantillan}} \qquad \mathbf{(4)}$$

III -2-2) Mesure des paramètres cinétique de croissance

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

$$\mu \text{ max} = (\ln X_1 - \ln X_2) / (t_2 - t_1) \ln 2 \quad (5)$$

$$G = 1/\mu \text{ max} \quad (6)$$

$$P = (X_f - X_0)/(t_2 - t_1) \quad (7)$$

Tel que :

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

X_f est la concentration finale

t_2 et t_1 sont les temps de croissance

III -2 -3) Mesure de concentration des culture :

La concentration des cultures est suivie par la mesure de la densité optique à 618 nm, une courbe 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) le calcule des poids sec pour chaque culture est obtenue de l'équation de beer lambert

$$DO = \text{Log } I0/I = \varepsilon.L \,.\, C_b \quad (8)$$

Où:

I_0 :Intensité faisceau lumineux monochromatique incident ;

I : Intensité faisceau lumineux ;

ε : Coefficient d'extinction moléculaire ;

C_b : Concentration du corps absorbant dans la solution.

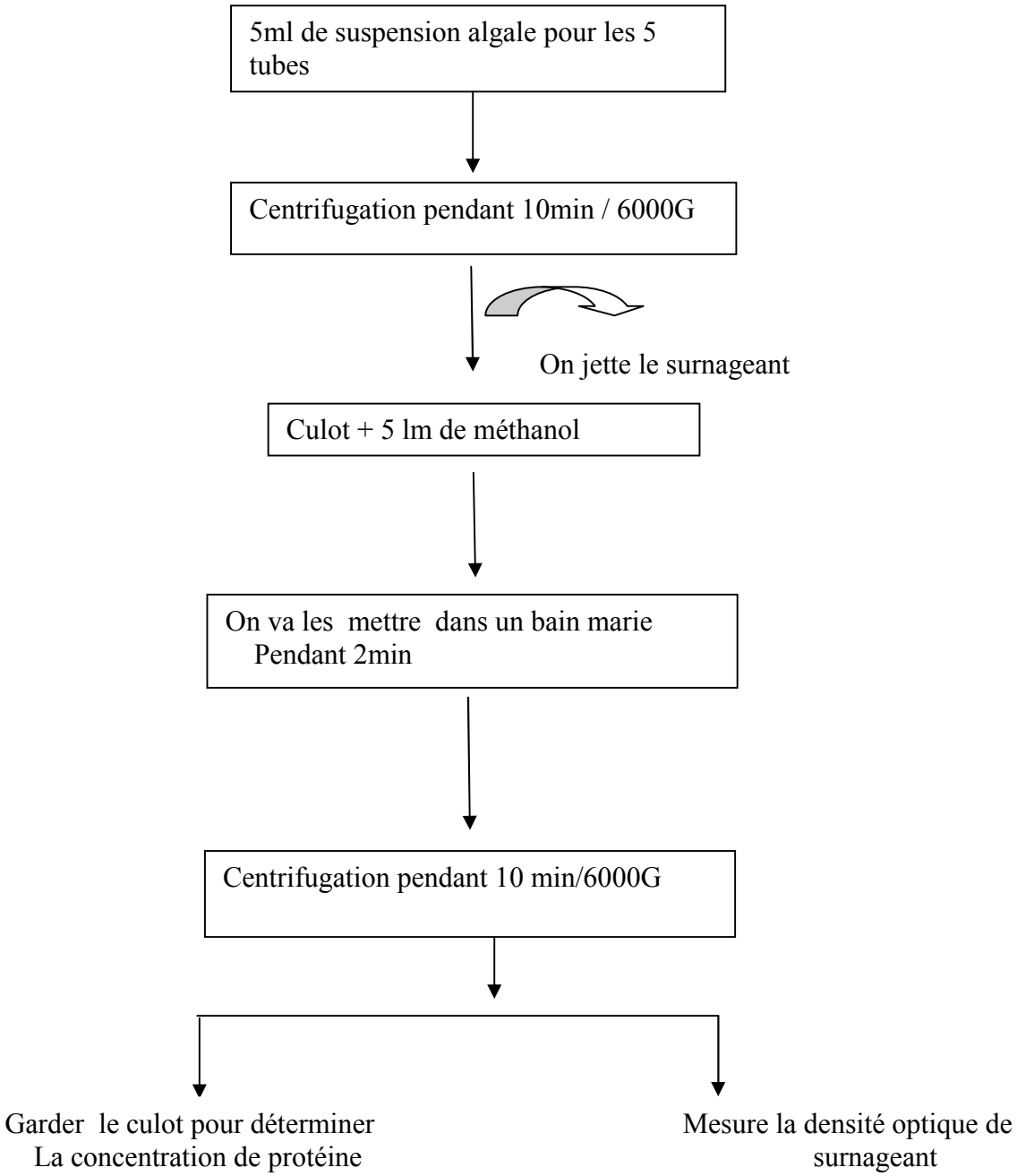
Dans notre expérimentale la concentration des cultures est déterminer à partir de la courbe étalonne établie entre la DO et la concentration poids sec de culture

$$DO = aC + b \quad (9)$$

III -2-4) Détermination de chlorophylle

Les teneur 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 ci-dessous :

D1 : Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle [59]



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



Figure III -2 : l'extraction et purification de chlorophylle

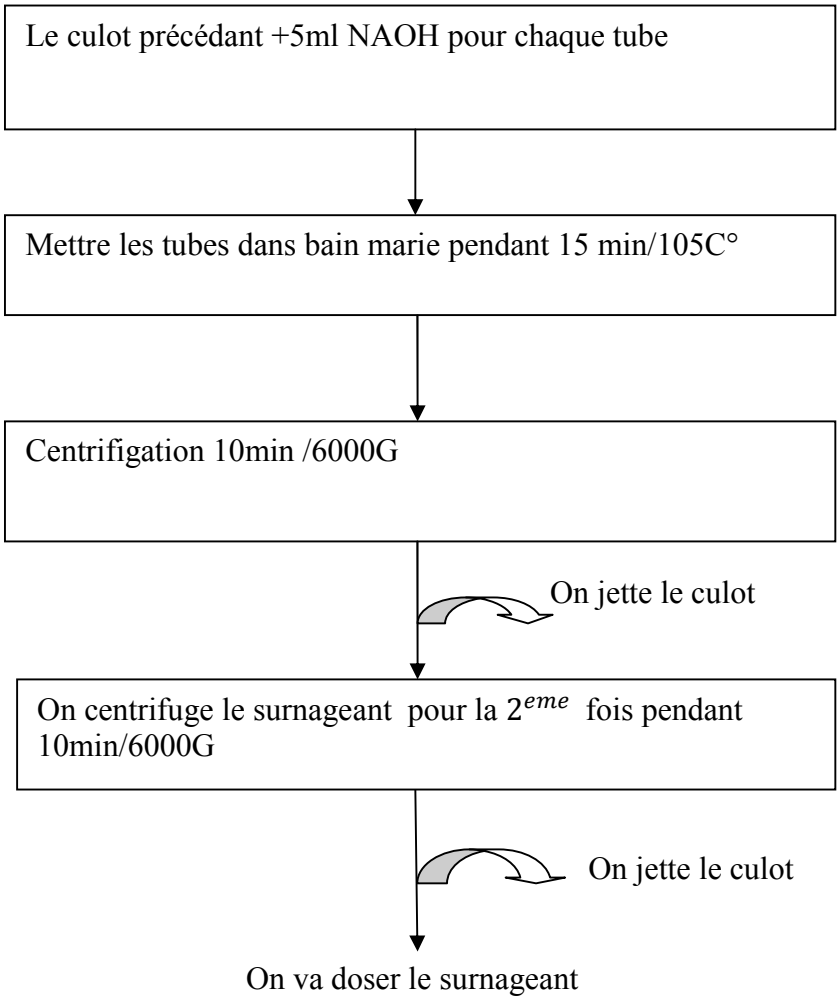
La quantité des chlorophylles a est calculée selon l' équations suivante (Hansmann, 1973) :

$$[cha] = 11{,}6DO_{665} - 1.31\ DO_{645} - 0.14DO_{630} \qquad (5)$$

III -2-5) Extraction et dosage des protéines

Les teneurs en protéines sont mesurés à partir de culots récupérés de l'étape d'extraction de chlorophylle, extraction de protéines suit les étapes présentées dans la figure suivante :

D2 :les étapes extraction de protéine [60]



III -2-5 -1) Dosage de protéine par méthode de bradford(1976)

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976) qui repose sur un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm) se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Comassie après complexation avec les acides aminées aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines.

La forme anionique (liée) du colorant est bleue et possède un spectre d'absorption maximal estimé à 595 nm. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouges et vertes, absorbant à 465 – 470 nm [61].

Le changement d'absorbance est proportionnel à la qualité du colorant lié et indique la concentration en protéines de l'échantillon.

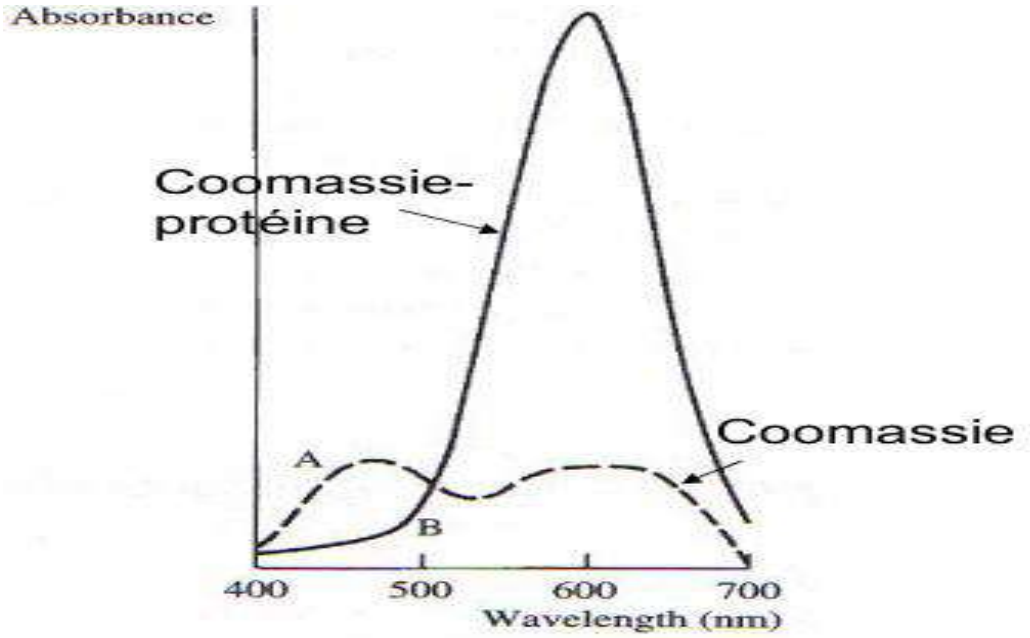


Figure III-3: Le Spectre d'absorption du complexe Coomassie-protéine [62]

III -2-5-2) Les avantages de la méthode de bradford

- Détection protéine de 1 µ g/mL à 1.5 mg/Ml.
- méthode simple et rapide (5 min), ajout d'un seul réactif .

⇨ Préparation de réactif de bradford :

Bleau de Coomassie G250	*100 mg*
Ethanol à 95%	*50 mL*
Acide phosphorique (H3PO4) à 85%	*100 mL*
dH_2O	*QSP 1L*

A conserver à + 4°C à l'abrit de la lumière

Cette méthode articule sur la loi de *Beer-Lamber* pour déterminer une concentration inconnue d'une solution protéique (EEPP). Dans la première étape. on trace la courbe d'étalonnage A= f ([Protéine]) comme suit :

- Prendre 5 tubes à essaies, y introduire :
  - *0,1 ml de l'albumine à différentes concentrations [0-100] (mg/l) avec un pas de 25 mg/l.*
  - *0,25 ml NaOH (1 M).*
  - 5 ml du réactif de Bradford.
  - Agiter puis laisser les tubes 10 min pour développer la coloration.
  - Chaque concentration correspond à une absorbance.
- A la afin, on trace la courbe A=f ([Albumine])

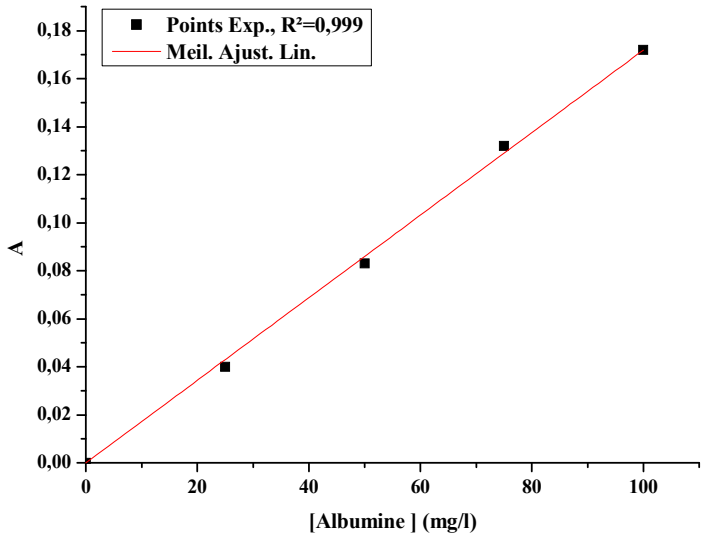


Figure III - 4 : Courbe d'étalonnage de l'abumine, λ=590 nm,

l'équation de la courbe :

A=0.001 [Albumine]

Dans un tube à hémolyse contenant 0,100 ml de l'échantillon à doser, on ajoute 2 ml de réactif au bleu de Coomassie *o*,25 ml NaOH (1 M). et on mélange le tout; après 5 min, on lit les absorbances à 612 nm contre un réactif témoin.

L'absorbance de chaque concentration a été déterminée et une courbe d'étalonnage a été établie.

la quantité de protéine est selon l ' équation suivante **Q= C*50**

tel que 50 est le facteur de dilution puis % de protéine = (Q*100)/poid sec de biomasse en mg de protéine par g de biomasse PS

CHAPITRE IV

Résultat et discussion

IV) Résultat et discussion

IV- 1) Effet de l'intensité lumineuse sur la cinétique de croissance :

IV- 1-1) Comparaison entre les trois cinétiques de PBR cylindrique

Les cinétique de croissance des trois PBR sont présenté dans les figure (IV-1) , la phase stationnaire est atteint après 18 , 19 et 26^{em} jour pour les PBR cylindrique 18 ml , 250 ml et 500 ml respectivement. Pour déterminer quel est le PBR qui donne une meilleure production, en fait une comparaison entre le trois PBR toute en fixant la durée de croissance à 15^{em} jour.

Les concentration obtenus sont de 3.143, 2.313 et 1.958 g/l PS pour les trois PBR respectivement, on constate que les concentration obtenus sont inversement proportionnelle avec la taille de PBR . D'après ces résultats on peut conclure que la meilleure production de biomasse est obtenue dans le PBR de faible diamètre. Les mêmes résultats ont été décrie par C.U.Ugwu and all (2005) . Ce la peut explique par la surface d'exposition plus élevée par rapport à son volume S/V qui permet une bonne diffusion de la lumière et une bon homogénéisation dans le PBR de faible diamètre. ce rapport S/V a une relation directe avec le diamètre D de réacteur, on peut l'exprimer par le diamètre comme suivant :

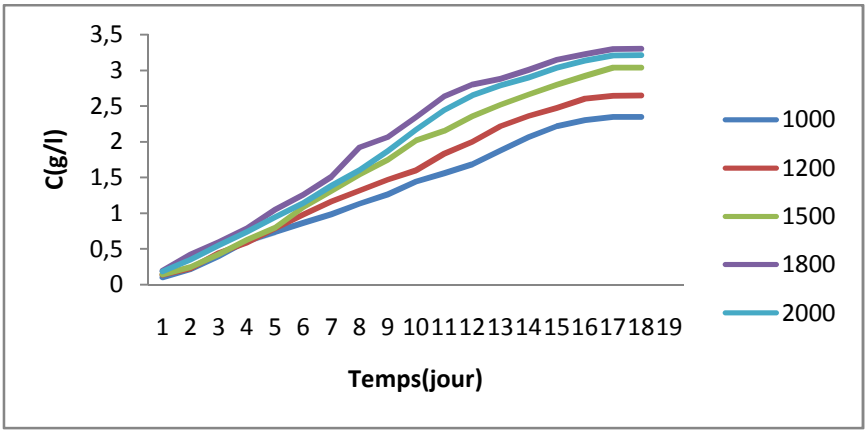
$$\mathbf{S/V = 2\pi\left(\frac{D}{2}\right)H/\pi\left(\frac{D}{2}\right)R^2H}$$

$$\mathbf{S/V = 2/D}$$

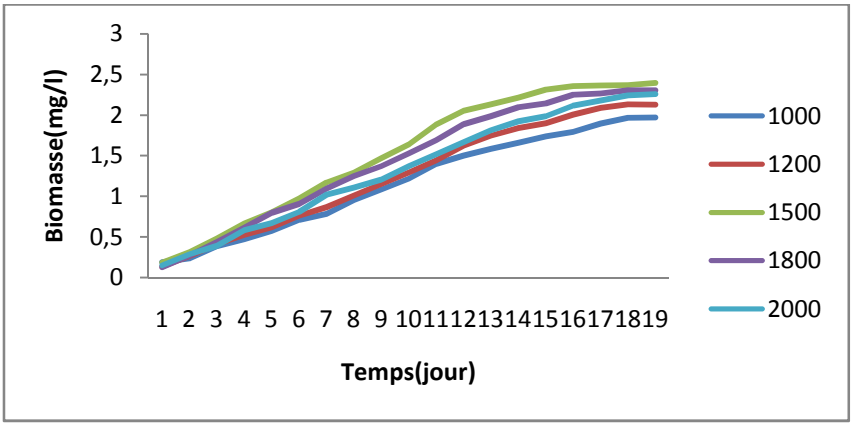
Tel que

- ✓ H la hauteur de culture dans PBR
- ✓ D : le diametre de PBR

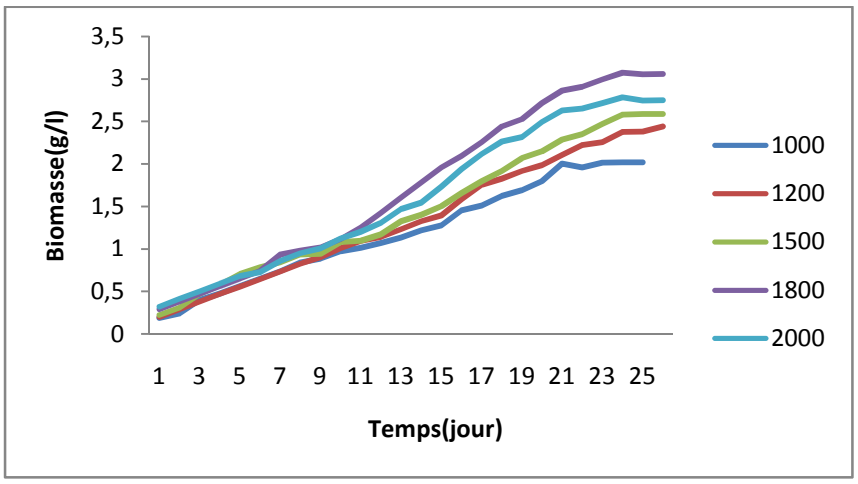
Le rapport S/V correspond à la surface spécifique de PBR, la meilleure croissance est obtenue pour les surfaces spécifiques la plus élevés.



A



B



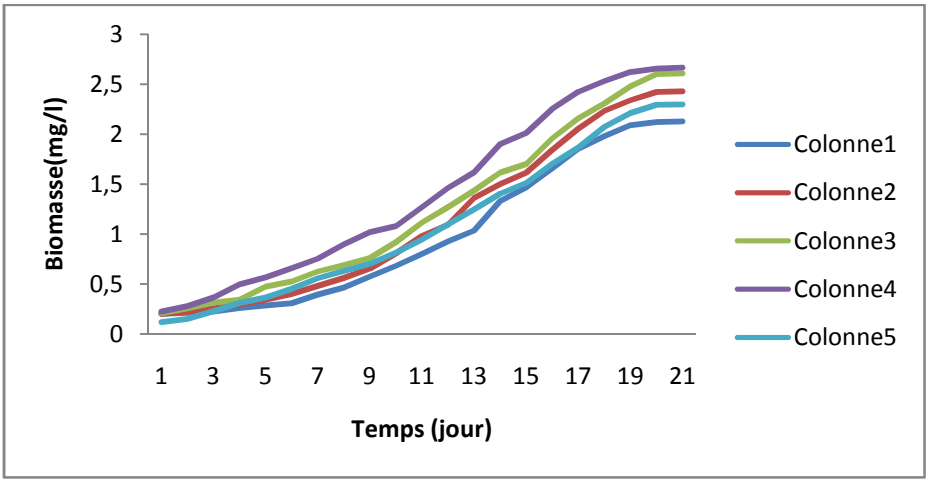
CFigure IV-1 : Cinétique de croissance de spiruline dans les PBR cylindriques

A(PBR 18 ml); B (PBR 250 ml) ; C(PBR 500ml).

IV -1-2) Comparaison entre les cinétiques de PBR conique :

La cinétique de croissance de spiruline dans le PBR conique montre que la croissance est proportionnelle avec l'intensité lumineuse avec un ponte plus élevé à 1800 lux. La phase stationnaire est éteint au 21^{em} jour et 27^{em} jour pour le PBR 250 ml et 500 ml respectivement

La production de biomasse obtenue dans le PBR conique présente les même évolution de celle obtenus dans le cas de PBR cylindrique avec des concentrations en biomasse 1,683 et 1,133 g/l PS pour le PBR 250 ml et500ml respectivement.



A

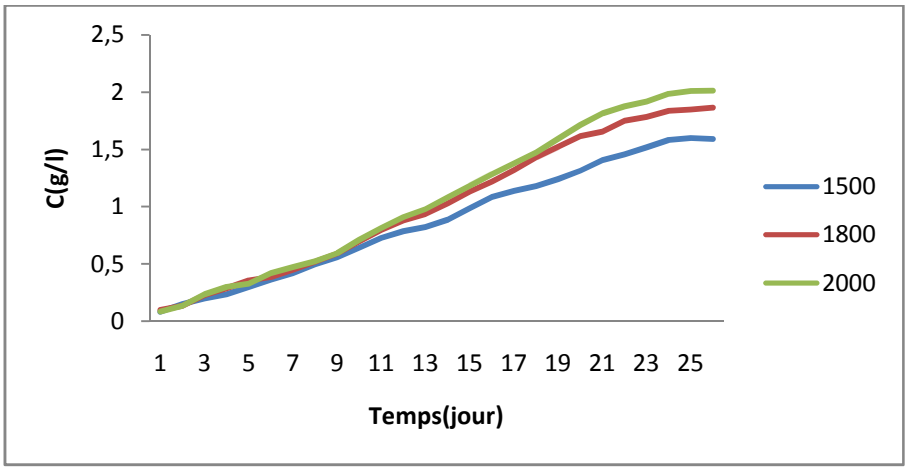


Figure IV-1 : Cinétique de croissance de spiruline dans les PBR coniques A (PBR 250 ml) ; B(PBR 500ml).

IV -2) Comparaison entre les deux formes cylindriques et coniques (valeur optimale) :

Pour voire quelle est la forme de PBR qui donne une bonne roissance, une comparaison a été faite pour un e capacité de 250 ml . Les résultats obtenus des deux formes sont présentés dans la figure IV-3.

à 15^{em} jour on a obtenu une concetration plus élevé de 2,313 g/l PS dans le PBR cylindrique contre 1,683 g/l PS à 1800 lux dans celle de conique , ce la peut explique par une bon homogénisation dans le PBR cylindrique que ce lui de forme conique. On peut conclure que le PBR cylindrique est mieux adapte pour la croissance de spiruline et une production de biomasse plus optimale de spiruline.

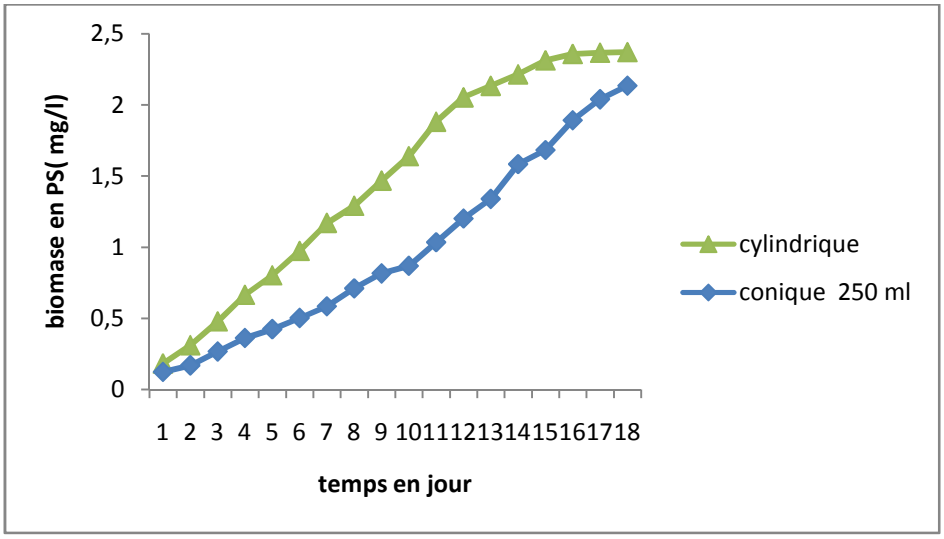


Figure IV-3 : comparaison entre les cinétique de croissance obtenues dans les deux formes de PBR cylindrique et conique

IV -3) Etude de effet de lumière sur le Umax et productivité :

Les valeurs de µmax et productivité ainsi que le temps de génération sont présentés dans la figure (IV-5), on observe que la vitesse de croissance µmax et productivité est proportionnelle avec l'intensité lumineuse appliquée, avec une valeurs plus élevé obtenue pour le PBR cylindrique, ces résultat sont en accord avec celle remporté par A. Vonshak and L. Tomaelli (2000) et James C. Ogbonna_ & Hideo Tanaka(2000) .

Dans le quelle en peut interprété ces variation de µmax sous effet de intensité par existence différentes zone d'éclairages dans le PBR ,les intensité lumineuse dans les à quatre zone illustre dans la figure(IV-4) , zone d'ombre(pas de croissance), zone de limitation(croissance limitant ; zone de saturation (croissance optimale) et une zone d'inhibition de croissance

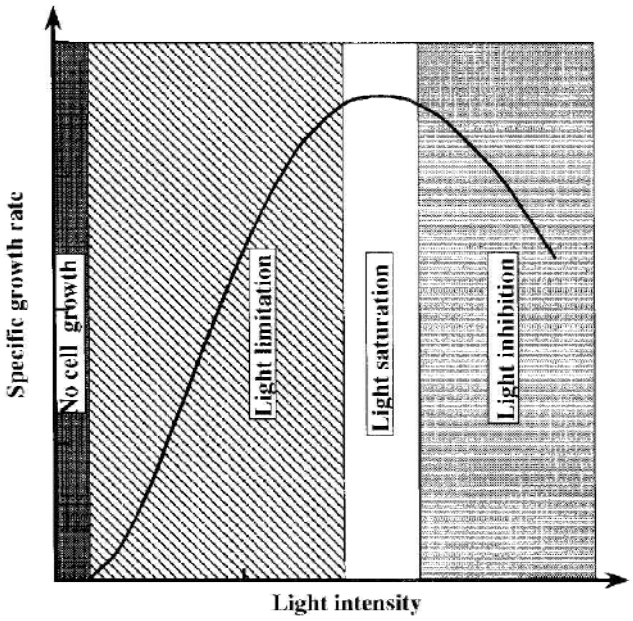
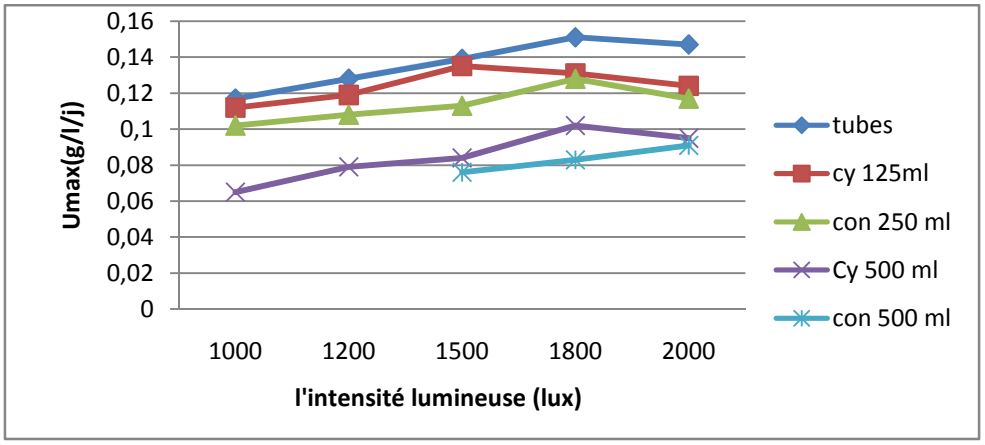
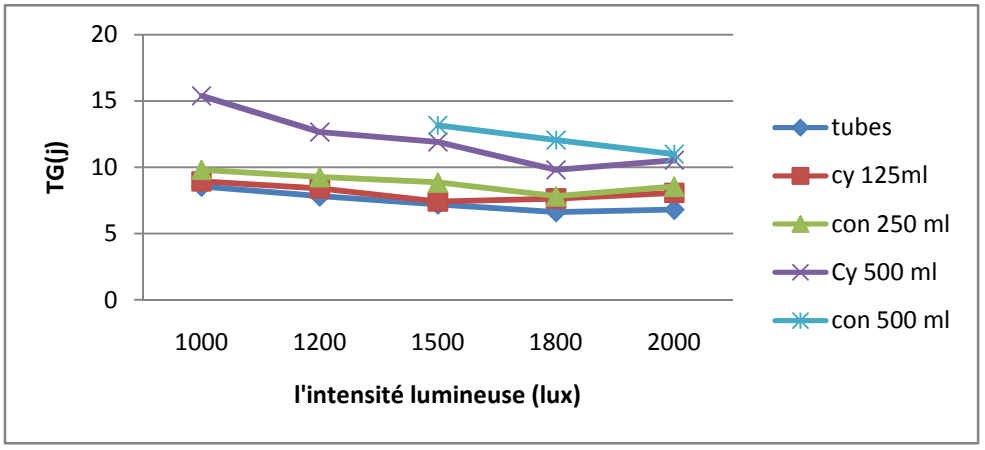


Figure IV-4 : effet de la lumière sur taux de croissance spécifique de spiruline [63]

D'autre part on observe que La vitesse de croissance µmax est inversement proportionnelle avec le diamètre de PBR, On constate que la meilleure valeur de µmax est présenté par le faible diamètre pour les deux type de PBR



A



B

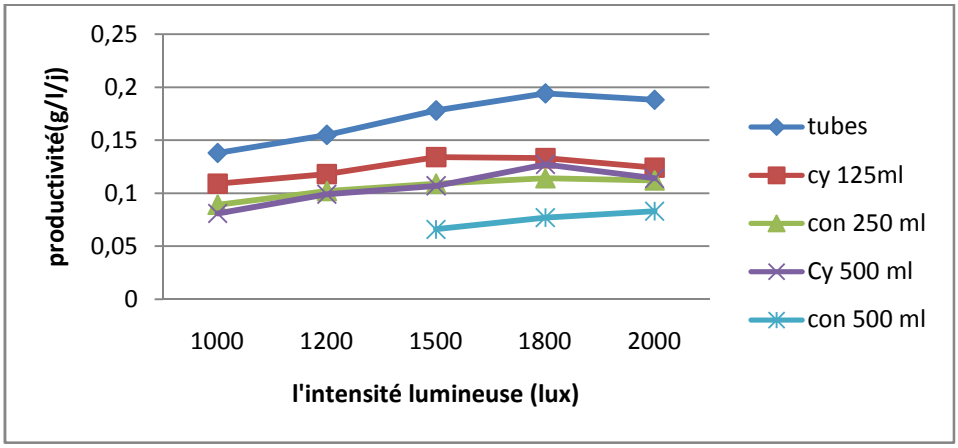


Figure IV-5 : effet de l'intensité lumineuse sur la vitesse de croissance et la productivité.A (µmax) ; B (temps de génération) ;C(productivité).

IV -3) l'effet de l'intensité lumineuse et le diamètre de PBR sur le teneurs en chlorophylles et protéines :

Les teneurs en chlorophylle et en protéines des biomasses récoltées sont présente dans les figures (IV-6) et (IV-7). Pour la plupart des PBR, les teneure en chlorophylle et en protéine oscille sur un niveau stable entre les valeurs 7,07- 7,25 mg/g et 54,86-et 61,21 % respectivement, les teneures en chlorophylle et en protéines obtenues pour l'ensembles des expériences sont en accord avec les résultats cité par Pelizer H.L (2003)

Danesi E.DG et COLL (2004) a constaté que lors ce que on applique une intensité lumineuse fixée sur un PBR, les contenues en chlorophylle reste non influence durant tous le cycle de croissance, cela reflète un bonne état physiologique de micro-organisme et la qualité de biomasse produite.

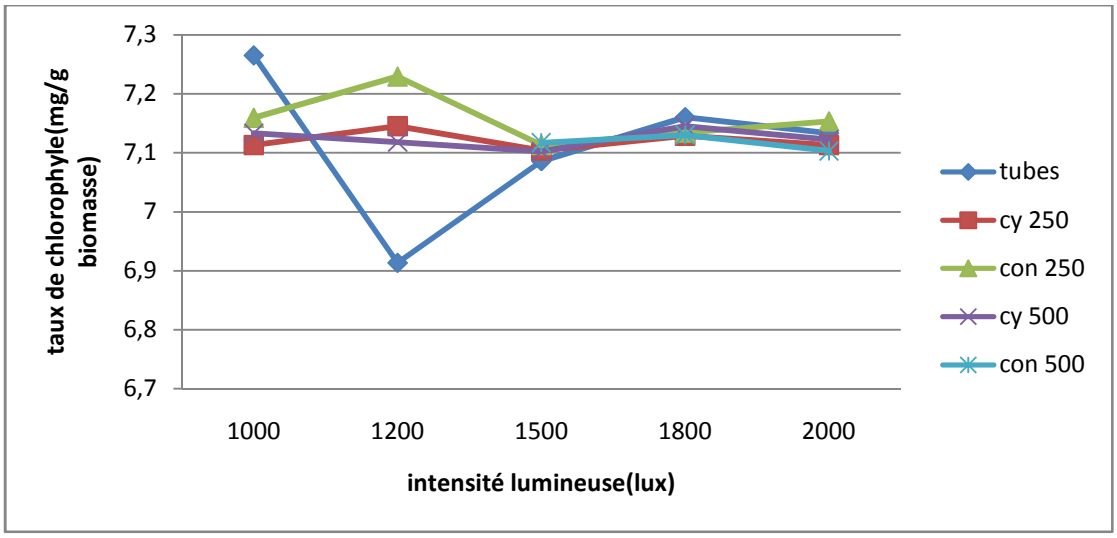


Figure IV-6 : effet de la intensité lumineuse sur taux le contenue en chlorophylle.

Reste à signale une léger influence remarque dans le PBR tube à essai et PBR conique 250ml, un taux de chlorophylle plus élevé obtenue pour les intensités plus faible 1000lux et 1200 lux pour les PBR 18 ml(tube à essai) et 250 ml (conique) respectivement. Ainsi un pourcentage plus élevé en protéines 73,99% marque pour le PBR 500 ml, cette différence remarque pour les taux en chlorophylle et en protéines peut éte dû à la taille de PBR (diamètre), ces résultat sont en acore avec celle décrie par Ugwa .C.U et coll(2005)

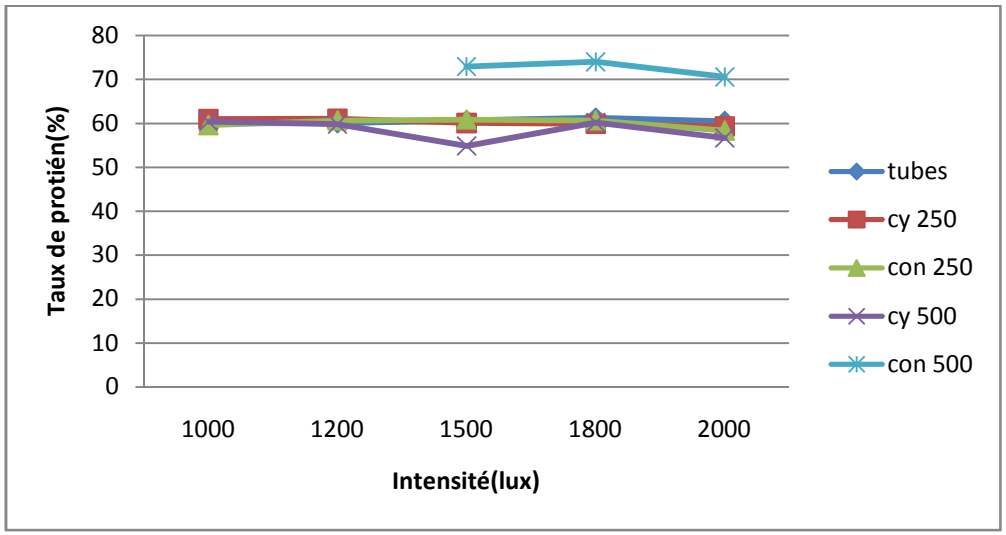


Figure IV-7 : effet de la lumière sur l'intensité lumineuse sur les contenue en protéines

IV -4) Evolution du pH dans les phtobioreacteurs

La mesure du pH du milieu permet de suivre l'évolution de la culture de la spiruline et ainsi on règle éventuellement la marche de la culture tout près du pH maximum autorisé qui est de 11,2 d'après JOURDAN ,1999 .

Le pH du milieu de culture a été mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre, du milieu de culture a été prélevé dans un Becher. Le pH est lu après un étalonnage préalable avec une solution de référence pH 7.

Les résultats des différents essais ont été effectués montre que le PH de culture de spiruline se Situé entre [9.2 – 10.8] qui sont en d'accord avec les résultats de jordan 1999, la variation de PH ne correspond ni la forme de photobioreacteur ni l'intensité lumineuse , elle correspond de la composition de milieu .

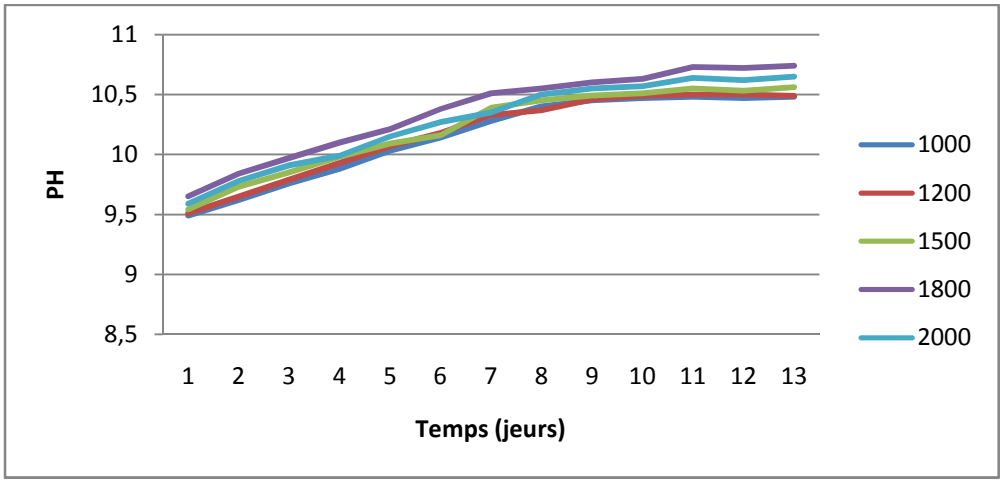


Figure IV-8 : Evolution de PH dans un photobioreacteur cylindrique

conclusion

CONCLUSION

Conclusion

Les photo-bioréacteurs en batch offrent un certain nombre d'avantages, permettent d'appréhender les phénomènes cinétiques. Ils présentent un meilleur rendement de fixation du CO2 par les micro-algues, une meilleure production de biomasse, un meilleur contrôle du procédé et permettent de limiter les contaminations; dans notre travaille nous avons comparé entre les deux réacteur cylindrique et conique sous différents intensités lumineuses et étudier la production de biomasse de la spiruline et évaluer les facteurs de croissance de celle-ci, et le taux de croissance ainsi que la teneure de protéine et chlorophylle.

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

- Le PH de culture de spiruline est situé entre (9.2-10.8).
- l'intensité lumineuse optimale de production est de l'ordre de 1800 lux pour les deux forme de PBR
- La productivité augmente avec la surface spécifique, alors on conclue que la meilleure valeur de μmax est présentée par le faible diamètre pour les deux type de PBR
- un taux de chlorophylle plus élevé obtenue pour les intensités plus faible (1000lux)
- un teneur plus élevé en protéines 73,99% marque pour le PBR 500 ml
- On conclue que le PBR cylindrique est mieux adapte pour la croissance de spiruline et une production de biomasse plus optimale de spiruline.

En perspectives, on vise à

- Une application sous la radiation de soleil pour des cultutre plus dense et pour des dimmention de grande echrelle.
- pour une bonne comprehansion de phénomène, on introduit d'autre parametres physico-chimique de croissance, telque la composition de milieu de culture (source d'azote , source d'olégo-élements, effet de pH, effet la température , la salinité du milieu ansi que l'effet de de l'unoculum de départ.
- une modilisation de système dans le but d'optimiser les cinétique, predire les sortés et d'étudie les interaction qui peut etre exister.

Bibliographie

BIBLIOGRAPHIE

[1] : CLEMENT G. (1970). Une algue à haute teneur en protéines. Sciences, progrès, Découvertes, 39-46.

[2] : 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

[3] : FOX D (1994).Les bénéfices de la Spirulina sur le plan de la santé et le test nutritionnel sur les enfants mal nourris: KWASHIORKOR &MARASME. ACMA, pp.1-9.

[4] : PEREZ R. (1997) Ces algues qui nous entourent : conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. Editions IFREMER

[5] : FARRAR W.V. (1966) « Techuitlatl, A Glimpse of Aztec Food Technology » Nature N° 5047, 23 juillet

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

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

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

[9] : Cruchot H (2008). La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite.

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

[11] : 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.

[12] : 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.

[13] : Pierlovisi C (2007) . L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162)

[14]: Li B, Gao MH, Zhang XC, Chu XM (2006). Mole cular immune mechanism of C-phycocyanin from Spirulina platensis induces apoptosis in HeLa cells in vitro. Biotechnology And Applied Biochemistry 43(3)

[15]: Chopra K, Bishnoi M (2007). Antioxydant Profile of Spirulina : A Blue-Green Microalga in Spirulina In Gershwin & Belay (ed.) Spirulina in Human Nutrition and Health : 101-118

[16]: Wu L-c, Ho J-a A (2007). Antixoxydative and Hepatoprotective Effects of Spirulina In Gershwin & Belay (ed.) Spirulina in Human Nutrition and Health : 119-151

[17] : http://www.whfreeman.com/life/update/, modifié

[18] : 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.

[19] : Flaquet J et Hurni J.P (2006). Spiruline, Aspestc nutritionnels. Puplication Antenna Technologies. Genève.

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

[21] : Clément.G, (1975). Production et constituants caractéristiques des algues Spirulina platensis et maxima. Ann Nutr Alim. 29 : 477-488.

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

[23]: Jaime L, Mendiola JA, Herrero M, Soler-Rivas C, Santoyo S, SeñoransFJ, Cifuentes A, Ibáñez E. (2005). Separation and characterizationof antioxidants from Spirulina platensis microalga combiningpressurized liquid extraction, TLC, and HPLC-DAD. J Sep Sci 28:2111 Ŕ 2119.

[24]: Plaza M, Cifuentes A, Ibañez E. (2008). In the search of new functional food ingredients from algae. Food Sci Tech; 19:31-9.

[25] : 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

[26]: BABU M. et son équipe,(1995) « Evaluation of chemoprevention of oral cancer with spirulina. » Nutrition and Cancer Vol. 24, N°2. P197-202

[27] : HAYASHI T. et HAYASHI K. et al., (1996) « Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga Spirulina. » Journal of Natural Products, Vol.59, N°1. NP83-87

[28] : HENRIKSON R., (1997) Earth Food Spirulina (Ronore Enterprises, Inc.)

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

[30]: 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

[31] : Vonshak A, Tomaselli L (1997). Arthrospira (Spirulina): systematics and ecophysiology biochemistry. In: Vonshak A, editor. Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, p: 505Ŕ22.

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

[33] : 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. Hy drobiol., vol 2, 119-125.

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

[35]: Jeffrey, S. W., Wright, S. W (2006). Photosynthetic pigments in marine microalgae: insights from cultures and the sea. In Algal cultures, Analogues of blooms and applications, volume 1

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

[37]: Turpin, D. H. (1991). Effects of inorganic n availability on algal photosynthesis and carbon metabolism. Journal of Phycology 27 (1), 14–20.

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

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

[40] :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.

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

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

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

[44] : 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.

[45] : 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

[46]: Richmond, A. (2000). "Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view." Journal of Applied Phycology 12 (3-5). 441-451.

[47]: Tredici, M. R. and Materassi, R. (1992). "From open pond to vertical alveolar panels: the italian experience in the development of reactors for the mass cultivation of phototrophic microorganisms." Journal of Applied Phycology 4. 221-231.

[48] J. M. and Molina Grima, E. (1997). "A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal

[49]: 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.

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

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

[52] Sanchez Miron, A., Gomez, A. C., Camacho, F. G., Molina Grima, E. and Chisti, Y. (1999). "Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale

[53] Hu, Q., Faiman, D. and Richmond, A. (1998). "Optimal tilt angles of enclosed reactors for growing photoautotrophic microorganisms outdoors." Journal of Fermentation and Bioengineering 85 (2). 230-236

[54]: Tsygankov, A. (2001). "Laboratory Scale Photobioreactors." Applied Biochemistry and Microbiology 37 (4). 333-341.

[55] : S. Chader, T. Mila, A. Rabhi, A. Chegrane, H. Rahmoun et N. Chibane (2009) Sélection des Souches locales de microalgue d'intérêt industriel. Rapport interne projet 6/7 CNRPDA / MPRH. Algérie .

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

[57] : JOURDAN J.P.(1997) Cultivez votre spiruline, manuel de culture artisanale de la spiruline. Le Castanet, 30140 Mialet. 126P

[58]

[59]: 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 Spirulina platensis. Biomass and Bioenergy.26: 329-335.

[60]: Lowry, O.H., Rosebrough, N.L , Farr, A.L. and Radall, R.J (1951)
Protein measurement with the folin-phenol reagent. J. Bio. Chem. 193, 265-275

[61]: M. Bradford.A (1876). Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72 (1976): 248 – 254

[62] : D.J. Holme, H. Peck (1998). Analytical Biochemistry, 3èhéd.

[63]: Chen F, Johns MR (1994) Substrate inhibition of Chlamydomonas reinhardtii by acetate in heterotrophic culture. Process Biochem. 29: 245–252.

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

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: Photos d'illustration de l'expérience



photo 1 : déférent photobioreacteurs à déférent volume



Photo 2 : cas de photolyse



Photo 3 : extraction de Chlorophylle



Photo 4 : récolte de culture

Annexe.3 : Valeurs des paramètres mesurés dans les cultures expérimentales

Umax

	tubes	cy 125ml	con 250 ml	Cy 500 ml	con 500 ml
1000	0,117	0,112	0,102	0,065	
1200	0,128	0,119	0,108	0,079	
1500	0,139	0,135	0,113	0,084	0,076
1800	0,151	0,131	0,128	0,102	0,083
2000	0,147	0,124	0,117	0,095	0,091

La Productivité

	tubes	cy 125ml	con 250 ml	Cy 500 ml	con 500 ml
1000	0,138	0,109	0,089	0,081	
1200	0,155	0,118	0,102	0,099	
1500	0,178	0,134	0,109	0,107	0,066
1800	0,194	0,133	0,114	0,127	0,077
2000	0,188	0,124	0,112	0,114	0,083

Temps de génération

	tubes	cy 125ml	con 250 ml	Cy 500 ml	con 500 ml
1000	8,54	8,928	9,803	15,384	
1200	7,812	8,403	9,259	12,658	
1500	7,194	7,407	8,849	11,9	13,157
1800	6,622	7,633	7,812	9,803	12,048
2000	6,802	8,064	8,547	10,526	10,989

Le Chlorophylle a

	tubes	cy 125ml	con 250 ml	Cy 500 ml	con 500 ml
1000	17,032	14	12,78	14,41	
1200	18,3	15,22	14,792	17,37	
1500	21,5	17,03	15,67	18,38	11,324
1800	23,63	16,434	16,46	21,85	13,298
2000	22,89	16,07	16,11	19,58	14,3

Le protéine

	tubes	cy 125ml	con 250 ml	Cy 500 ml	con 500 ml
1000	35,2	30	26,75	30,5	
1200	39,7	32,5	31,02	36,5	
1500	46	36	33,52	35,5	29
1800	50,5	34,5	34,97	46	34,5
2000	48,5	33,5	32,8	41	35,5