REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Biotechnologie et Microbiologie Appliquée

Par

M^elle BENMOULOUD Souhila

M^elle LAKHDARI Chafika

Thème

Conception d'un photobioréacteur et optimisation des paramètres physico-chimiques de la croissance d'une cyanobactérie (*Arthrospira platensis*)

Soutenue publiquement le : 20/06/2017 ., devant le jury composé de :

Président	BELHADJ Hicham	M.A.A	Université de Médéa
Examinateur 1	CHAMI Bouaza	M.A.A	Université de Médéa
Examinateur 2	TIR Mohamed	M.C.B	Université de Médéa
Encadreur	AINAS Mahfoud	M.A.A.	Université de Médéa

Année universitaire : 2016 / 2017

REMERCIEMENT

MERCI !

C'est un petit mot tout simple
Mais qui pèse lourd
Si mes lèvres l'expriment avec douceur
C'est qu'il prend naissance au fond de mon cœur
Un grand Merci, un petit Merci
Peu importe sa taille
Il n'a pas de dimension ...
Que ce soit dans la joie ou dans la tristesse !
C'est un signe de reconnaissance
Qui ne connait pas l'indifférence !
Merci !
Un petit mot qui fait du bien quand on le prononce
Un petit mot gracieux qui calme et réjouit
Merci ! Merci !
Merci de m'avoir permis de te dire,
De vous dire :
Merci !

Nous remercions en premier lieu, Dieu le tout puissant qui nous a accordé la volonté et le courage pour réaliser ce travail.
En second lieu, nous tenons à remercier chaleureusement notre encadreur de mémoire, Monsieur AINAS MAHFOUD pour ses conseils, sa disponibilité, sa gentillesse et surtout pour nous avoir proposé ce projet et avoir assuré le suivi.

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

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

Un grand MERCI à tous les enseignants de l'Université DR.YAHIA FARESS de MEDEA qui nous ont formés durant nos cinq années d'études.
Nous aimerions aussi remercier nos amis et camarades pour le soutien moral qu'ils nous ont apporté et qui nous a permis la force pour continuer. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude.

Merci à tous

A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible

Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre

Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins

Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent

Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout

Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance

Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal

Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri

Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré

Je dédie ce travail à

Ma très chère mère,

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente

Pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices

Que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance,

Durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Mon très cher père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,

L'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et

Nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mes très chers frères

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de

L'affection que je porte pour vous.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de

Bonheur, de santé et de réussite.

A ma très chère sœur

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de

Réussite et de sérénité.

Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de

Sororité et d'amour.

A mes chers oncles et tantes et leurs familles

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils.

Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand

Secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.

Veuillez trouver dans ce modeste travail

Ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A ma grand-mère

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond

Amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et

Vous accordez santé, longue vie et bonheur.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

A mes chères amies :

Souhila ,Nawel, Soumia, Lamia, Faiza, Waffa

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous

Exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des

Frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de

Tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie

Ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de

Bonheur.

Chafika

Je dédie ce travail à

Ma très chère mère,

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente

Pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices

Que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance,

Durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Mon très cher père,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,

L'estime, le dévouement et le respect que j'ai pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et

Nuit pour mon éducation et mon bien être.

A mes très chers frères

En témoignage de l'attachement, de l'amour et de

L'affection que je porte pour vous.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de

Bonheur, de santé et de réussite.

A mes chers oncles et tantes et leurs familles

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils.

Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand

Secours au long de ma vie professionnelle et personnelle.

Veuillez trouver dans ce modeste travail

Ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A ma grand-mère

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond

Amour. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et

Vous accordez santé, longue vie et bonheur.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection

A mes chères amies :

Chafika, Salma, Mahdia, Amel, Hannan, Chahinaz, Lamia, Nadia, Ibtissem, wafaa, Imen, Wissem, Khadidja, Merieme

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous

Exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des

Frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de

Tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie

Ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de

Bonheur.

Souhila

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير شدة الضوء، والتركيز الأولي والمساحة السطحية للمفاعل الحيوي الضوئي على إنتاج الكتلة الحيوية والأصباغ الضوئية من البكتيريا الزرقاء. تم التعرف على السيانوباكتريوم أرثروسبيرا بلاتنسيس المستعملة ومن ثم تقييم نسبة احتوائها على البروتين. لقد عملنا على ثلاثة مفاعلات حيوية ضوئية تختلف من مفاعل الى اخر في نسبة المساحة/ الحجم من 94 الى 112 م$^{-1}$، وقد تم تصنيف هذا الأخير مع تركيزات منخفضة نسبيا في التركيز الأولي تتراوح ما بين 0.25 و0.75 غ/ل وهذا مع اختلاف في شدة الضوء المطبقة من 500 الى 1500 لوكس. أفضل إنتاجية في الكتلة الحيوية 0.824 غ /ل تم الحصول عليها مع المفاعل الحيوي الضوئي ذو نسبة المساحة/ الحجم كبيرة تساوي 112 م$^{-1}$ وسمك رقيق 1.5 سنتيمتر مع شدة ضوء عالية إلى حد ما 15000 لوكس وتركيز أولي منخفض 0.5 غ/ل. من ناحية أخرى، تم التوصل إلى أفضل إنتاجية في الأصبغة الضوئية (الكلوروفيل والفيكوسيانين على التوالي) عندما تعرضت بكتيريا السبيرولينا لشدة الضوء منخفضة تقدر ب 500 لوكس.

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

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer L'influence de l'intensité lumineuse, la concentration de l'inoculum de départ ainsi que la surface spécifique de photobioréacteur sur la production en biomasse et en pigments photosynthétique d'une cyanobactérie. La cyanobactérie *Arthrospira platensis* utilisé a été identifiée puis évaluée par rapport à sa teneur en protéines. On a travaillé avec trois photobioréacteurs de rapport Surface/Volume différents d'un réacteur à une autre de 94 à 112 m^{-1}, ces derniers ont été ensemencés avec des concentrations de l'inoculum de départ qui varie entre 0.25 et 0.75 g/l, sous différentes intensités lumineuses incidentes de 500 à 15000 lux. La meilleure productivité en biomasse était 0.824 $g.l^{-1}.j^{-1}$ est été obtenue avec un photobioréacteur de grande surface égale à 112 m^{-1} et mince épaisseur de 1.5 cm sous une intensité lumineuse assez élevé 15000 lux et une concentration d'inoculum faible 0.5g/l. En revanche la meilleure productivité en pigment photosynthétique (chlorophylle et phycocyanine respectivement) a été atteinte lorsque la culture de spiruline a été soumise à des faibles intensités estimées à 500 lux.

Mots clés : *Arthrospira platensis*, biomasse, surface spécifique, PBR, productivité

Summary

The objective of this study is to evaluate the influence of light intensity, the concentration of the starting inoculum and the specific surface area of photobioreactor on the production of biomass and photosynthetic pigments of a cyanobacterium. The cyanobacterium *Arthrospira platensis* used was identified and then evaluated relative to its protein content. We worked with three photobioreactors with different Surface / Volume ratios from one reactor to another of 94 to 112 m^{-1} were seeded with concentrations of the starting inoculum ranging from 0.25 to 0.75 g / l, and There under different incident light intensity from 500 to 15000 lux. The best productivity of biomass being at 0.824 $g.l^{-1}.j^{-1}$ was obtained with a photobioreactor of large area equal to 112 m^{-1} and thin thickness of 1.5 cm under a light intensity high enough 15000 lux and a concentration of inoculum low 0.5g / l. On the other hand, the best productivity of photosynthetic pigment (chlorophyll and phycocyanin respectively) was reached when the spirulina culture was subjected to low intensity estimated at 500 lux.

Keywords: *Arthrospira platensis*, biomass, surface area, PBR, productivity

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE…… **Page 1**

CHAPITRE I : Synthèse bibliographique

I.1. Micro-algue modèle : La spiruline ……..…… **Page 3**

I.1.1. La spiruline : Généralité ……..…….. **Page 3**

I.1.1.1. Historique ……..…… **Page 3**

I.1.1.2. Taxonomie ……..…….. **Page 4**

I.1.1.3. Morphologie ……..……... **Page 6**

I.1.1.4. Composition ……..…… **Page 7**

I.1.1.5. Reproduction ……...……. **Page 9**

I.1.1.6. Déplacement ……..……... **Page 10**

I.1.2. L'appareil photosynthétique de Spiruline……...…… **Page 10**

I.1.2.1. Transfert d'énergie……..…. **Page 11**

I.1.2.2. Transport d'électrons ……..…… **Page 12**

I.1.2.2.1. Les réactions lumineuses……..…… **Page 12**

I.1.2.2.2. Les réactions obscures…… **Page 12**

I.1.3. Habitat et répartition géographique ……... **Page 13**

I.1.4. Les multiples usages de la spiruline……... **Page 14**

I.1.4.1. Spiruline à usage humain……..……..…….. **Page 14**

I.1.4.1.1. Santé……...……..…… **Page 14**

I.1.4.1.2. Cosmétique…..……...…… **Page 14**

I.1.4.1.3. Agroalimentaire……..……... **Page 14**

I.1.4.1.4. Environnementale…… **Page 14**

I.1.4.1.5. Énergétique ……...…. **Page 14**

I.1.4.2. Spiruline à usage animal ..... **Page 15**

I.2. Culture des micro-organismes photosynthétique..... Page 16

I.2.1. Croissance ..... **Page 16**

I.2.2.1. Historique..... **Page 16**

I.2.2.2. Diversité technologique..... **Page 17**

I.2.2.3. Technologies solaires..... **Page 17**

I.2.2.3.1. Systèmes ouverts..... **Page 17**

I.2.2.3.1.1. Technologies existantes..... **Page 18**

I.2.2.3.1.1.1. Bassins de lagunages, étangs..... **Page 18**

I.2.2.3.1.1.2. Raceways..... **Page 19**

I.2.2.3.2. Systèmes clos..... **Page 20**

I.2.2.3.2.1. Technologies existantes..... **Page 20**

I.2.2.3.2.1.1. Photobioréacteurs tubulaires et cylindriques..... **Page 20**

I.2.2.3.2.1.2. Photobioréacteurs plans..... **Page 22**

I.2.2.3.2.1.3 .Photobioréacteurs solaires à éclairage interne..... **Page 23**

I.2.2.3.2.1.4. Photobioréacteurs à lumière artificielle..... **Page 24**

I.2.2.3.2.2. Paramètres influençant le rendement des photobioréacteurs. **Page 25**

I.2.2.3.2.2. 1. Apport en lumière ..... **Page 25**

I.2.2.3.2.2. 2. Epaisseur du photobioréacteur..... **Page 27**

I.2.2.3.2.2. 3. L'Angle d'inclinaison du réacteur ..... **Page 27**

I.2.2.3.2.2. 4. Matériaux de construction ..... **Page 27**

I.2.3.2.2.5. Apport de carbone et de nutriments..... **Page 27**

I.2.2.3.2.2.6. Agitation ..... **Page 28**

I.2.2.3.2.2.7. Effets de la température..... **Page 28**

I.2.2.3.2.2.8. Effets du pH ..... **Page 29**

I.2.2.3.2.2.9. Effet de la salinité ..... **Page 29**

CHAPITRE II : Matériels et méthodes

II.1. **Matériels**…….. **Page 31**

II.1.1. Matériels biologiques …….. **Page 31**

II.1.2. Matériels non biologiques ……. **Page 31**

II.1.2.1. Appareillages …….. **Page 31**

II.1.2.2. Verreries et petits matériels……..…….. **Page 31**

II.1.3. Conception de photobioréacteurs…… **Page 32**

II.2. **Méthodes**…… **Page 33**

II.2.1. Examen microscopique ……..……. **Page 33**

II.2.1.1. Examen à l'état frais ……. **Page 33**

II.2.1.2. Examen après coloration du gram ……..…..… **Page 33**

II.2.2. Culture de la spiruline ……... **Page 34**

II.2.2.1. Conditions de culture ……... **Page 34**

II.2.2.2. Milieu de culture ……..……. **Page 35**

II.2.2.3. Préparation de l'inoculum…….……. **Page 36**

II.2.4. Démarrage de la culture ……..……...……... **Page 37**

II.2.2.5. Suivi des cultures…….…….. **Page 38**

II.2.3. Control de la contamination de la souche …….. **Page 38**

II.2.4. Méthode de mesure de la croissance……. **Page 38**

II.2.4.1. Détermination du poids sec……...……. **Page 38**

II.2.4.2. Mesure de la concentration cellulaire…… **Page 39**

II.2.5. Calcul de paramètres cinétiques……..…….. **Page 39**

II.2.6. Evaluation de la composition biochimique de la spiruline…….. **Page 39**

II.2.6.1. Dosage du pigment bleu : la phycocyanine…….....…... **Page 40**

II.2.6.2. Détermination de la chlorophylle a……...……. **Page 41**

II.2.6.3. Détermination des protéines…….…….……. **Page 41**

II.2.7. Analyse statistique……...……. **Page 43**

CHAPITRE III : Résultats et discussions

III.3.1. Spiruline vue au microscope…….. **Page 44**

III.3.2. Mesure de la biomasse…… **Page 44**

III.3.3. Cinétique de croissance de la spiruline …… **Page 45**

III.3.3. Influence des facteurs physico-chimiques …… **Page 48**

III.3.3.1. Effet de la concentration de l'inoculum de départ sur la croissance de spiruline …… **Page 49**

III.3.3.2. Effet de l'intensité lumineuse sur la croissance de spiruline…. **Page 50**

III.3.3.3 Effet du rapport surface /volume sur la croissance de spiruline **Page 51**

III.3.4. Optimisation des paramètres de croissance …… **Page 52**

III.3.5. Les effet d'interaction …… **Page 54**

III.3.5.1. Interaction entre l'intensité lumineuse et la concentration de l'inoculum de départ …… **Page 55**

III.3.5.2. Interaction entre l'intensité lumineuse et le rapport S/V…… **Page 56**

III.3.5.3. Interaction entre le rapport surface/volume et la concentration de l'inoculum de départ…… **Page 58**

III.3.6. Teneur en biopigments…… **Page 59**

III.3.6.1 Teneur en phycocyanine…… **Page 60**

III.3.6.2. Teneur en chlorophylle …… **Page 61**

III.3.7. Détermination de la teneur en protéine…… **Page 61**

CONCLUSION GENERALE…… **Page 63**

LISTES DES FIGURES

Figure I.1	Aspects morphologiques d'*Arthrospira platensis (A. fusiformis)* isolées de Lac Kailala (Tchad). (a)des trichomes de clones cultivés en laboratoire ; (b) fixe du trichome sauvages en formaldéhyde (2 %) ; (c) des trichomes de clones cultivés dans la culture de masse ; (d) auto florescence de trichome illustré dans (c). Marqueur bar = 10 mm	**Page 06**
Figure I.2	Forme spiralée (type « Lonar »)**……...**	**Page 06**
Figure I.3	Forme ondulée (type « Paracas »)**……**	**Page 07**
Figure I.4	Forme droite (type « M2 »)**……..**	**Page 07**
Figure I.5	Cycle de vie d'*Arthrospira sp***.....**	**Page 09**
Figure I.6	Fragmentation des trichomes du genre Arthrospira en culture au laboratoire. Marqueur bar = 10 mm **……**	**Page 10**
Figure I.7	Absorption de la lumière par les pigments photosynthétiques**…….**	**Page 11**
Figure I.8	L'absorption de l'énergie lumineuse et sa conversion en énergie chimique par une série de réactions de transfert d'électrons**……**	**Page 12**
Figure I.9	Schéma de cycle de Calvin montrant l'incorporation du CO2 au cours de la phase chimique / photochimique de la photosynthèse**…….**	**Page 13**
Figure I.10	Marais salant à Guérande (Loire atlantique)**……**	**Page 18**
Figure I.11	Bassin circulaires**……..**	**Page 19**
Figure I.12	Culture en raceways de Spiruline en Californie (22 ha)**……...**	**Page 20**
Figure I.13	PBR tubulaire solaire de Roquette**……...**	**Page 21**
Figure I.14	PBR plan en plastique thermoformé**……**	**Page 22**
Figure I.15	PBR solaire plan « AlgoFilm » à inclinaison variable et très haute productivité volumique développé au GEPEA**……**	**Page 23**
Figure I.16	PBR solaire à dilution contrôlée du flux en volume (DiCoFluV) développé au LGCB**…….**	**Page 24**
Figure I.17	PBR de type colonne à bulles**……...**	**Page 25**
Figure I.18	Atténuation de la lumière dans une culture de microalgues et réponse photosynthétique associée**……**	**Page 26**
Figure I.19	Géométries types de photobioréacteurs (planes et tubulaires)**…….**	**Page26**
Figure II.1	le montage du PBR lors d'une culture d'*Arthrospira sp* en mode batch.	**Page 32**

Figure II.2 Organigramme résume les diffferentes étapes d'extraction et de determination de la teneur en pycocyanine…….. **Page 40**
Figure II.3 Organigramme résume les differentes étapes d'extraction et de determination de la teneur en chlorophylle a et en proteines……... **Page 42**
Figure III.1 Observation au microscope optique de l'état frais de la Spiruline (Grossissement × 40)…… **Page 44**
Figure III.2 Observation de la spiruline au microscope après coloration du gram (Grossissement × 100)…….. **Page 44**
Figure III.3 Courbe d'étalonnage mettent en valeur la DO en fonction du poids sec. **Page 45**
Figure III.4 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport S/V =112 m^{-1}……... **Page 46**
Figure III.5 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport S/V =94 m^{-1}……. **Page 47**
Figure III.6 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de Rapport S/V =103 m^{-1}…….. **Page 47**
Figure III.7 variation de la concentration initiale de l'inoculum X0 en fonction des différentes expériences……. **Page 49**
Figure III.8 Effet de la concentration de l'inoculum de départ sur la Px et µmax…… **Page 49**
Figure III.9 Variation de l'intensité lumineuse en fonction des différentes expériences……... **Page 50**
Figure III.10 Effet de la lumière sur la Px et µmax……... **Page 51**
Figure III.11 Variation du rapport S /V en fonction des différentes expériences…….. **Page 52**
Figure III.12 Effet du rapport S/V d'un PBR sur la Px et µmax……... **Page 52**
Figure III.13 Fluctuation de Px ainsi que la µmax en fonction du nombre d'expériences…… **Page 53**
Figure III.14 Productivité en biomasse en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et de l'intensité lumineuse……. **Page 56**
Figure III.15 taux de croissance en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et de l'intensité lumineuse…….. **Page 56**
Figure III.16 Productivité en biomasse en fonction de l'intensité lumineuse et le rapport S/V……... **Page 57**
Figure III.17 taux de croissance fonction de l'intensité lumineuse et le rapport S/V… **Page 57**

Figure III.18 Productivité en biomasse en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et le rapport S/V…… **Page 58**
Figure III.19 taux de croissance en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et le rapport S/V…… **Page 58**
Figure III.20 Teneur en pigments chez la spiruline……... **Page 60**
Figure III.21 Courbe étalon mettant en relief la relation entre la DO et la concentration albumine de la souche de référence…….. **Page 62**

LISTES DES TABLEAUX

Tableau I.1	Les diverses appellations de la spiruline……..	**Page 05**
Tableau I.2	Position taxonomique……	**Page 05**
Tableau I.3	Composition de la spiruline……..	**Page 08**
Tableau II.1	Les différents types de PBR……..	**Page 33**
Tableau II.2	Composition chimique du milieu Zarrouk……	**Page 35**
Tableau II.3	Composition chimique de la solution A5……..	**Page 36**
Tableau II.4	Composition chimique de la solution B6……..	**Page 36**
Tableau II.5	Plan d'expériences…….	**Page 37**
Tableau II.6	Les différents réactifs utilisés lors de l'extraction de protéines…….	**Page 41**
Tableau III.1	Planification d'expériences……	**Page 48**
Tableau III.2	Teneur en chlorophylle et en phycocyanine de la spiruline..	**Page 59**

LISTES DES ACRONYMES

Abréviation	Signification
AA	Acide Aminée
AAE	Acide Aminée Essentiel
AGE	Acide Gras Essentiel
DEL	la lampe à diode électroluminescente
µA	micro Algue
A	Absorbance
DO	Densité optique
X0	La concentration initiale de l'inoculum
S	La surface éclairée
V	Volume de culture
PBR	Photobioréacteur
RSM	La méthodologie de la surface de réponse
Klux	kilolux
Chl a	Chlorophylle a
Phyco	Phycocyanine

NOTATION

G	Irradiance (µmolhν · m–2 · s–1 ou W · m–2)
Gc	Irradiance de Compensation (µmolhν · m–2 · s–1 ou W · m–2)
Gs	Irradiance de saturation
µmax	La vitesse de croissance spécifique maximale. (j^{-1})
Px	Productivité en biomasse ($g.l^{-1}.j^{-1}$)

Introduction générale

Introduction générale

Les spirulines, cyanobactéries traditionnellement consommées depuis des siècles par certaines populations [1], font l'objet d'une redécouverte depuis quelques années. Autrefois classée parmi les "algues bleues-vertes", elles apparaissent comme une algue de l'espoir, se développe dans les régions tropicales et subtropicales, Elle attire de plus en plus l'attention des scientifiques. De nombreuses études ont montré des effets positifs de sa consommation sur la santé humaine et animale. [2]

La culture des micro-organismes photosynthétiques tels que la spiruline dont le nom scientifique est *Arthrospira platensis* est réalisée dans un panel technologique diversifié, sans qu'un système ne puisse être privilégié. [3]

Actuellement, une grande partie de la production mondiale de biomasse microalgale est produite en système ouvert de façon solaire et extensive, dans des bassins de surface importantes de plusieurs centaines d'hectares, ils souffrent toutefois de limitations sévères, inhérents à leurs principes même, et donc difficiles, voire impossibles à contourner ces limitations. [4]

L'autre technologie en systèmes clos, appelée « photobioréacteur», apporte un contrôle poussé des conditions de culture, et permet ainsi d'atteindre les performances maximales en biomasse. Utiliser une géométrie fermée fait cependant franchir un palier technologique, vers des installations plus onéreuses et plus délicates à mettre en œuvres donc l'utilisation de ces systèmes ses limites à des installations de tailles modestes, avec un usage privilégié en lumière artificielle où un haut niveau de performances et de contrôle. [4]

En Algérie, on est au stade de la production artisanale et expérimentale.
Hiri Abdelkader l'unique Algérien qui connaît parfaitement le processus de production de cette espèce d'algue. Il a réussi à la faire déplacer de son environnement naturel vers un bassin.

L'échelle de production est également un point-clé. Lors de son changement, de nombreux paramètres sont à prendre en compte : surface d'illumination, accès des microalgues à la lumière, inoculum de départ, la surface spécifique et le contrôle des différents paramètres de cultures (température, pH, salinité). [5]

L'enjeu aujourd'hui est de trouver un nouveau système de culture, compact, garantissant le contrôle des conditions de cultures, avec des hautes performances et une bonne qualité (sans

contamination), et à moindres coûts d'investissement et d'exploitation. Ces derniers doivent être fiables avec une grande productivité, de grands volumes, peu coûteux à la construction et les paramètres de cultures doivent être facilement contrôlables.

Dans cette étude nous nous intéresserons à l'étude de la croissance de la microalgue *Arthrospira platensis* en condition photoautotrophique menée en photobioréacteur.

Dans ce contexte, on a cultivé la spiruline à petite échelle, dans le but de focaliser l'étude sur trois paramètres expérimental et évaluer leur influence dans la nouvelle conception de photobioréacteurs, afin d'optimiser la productivité de biomasse microalgale et la vitesse de croissance.

L'objet de ce travail consiste à réaliser une étude empirique, présentée dans ce manuscrit en trois chapitres principaux.

Le premier chapitre présente des généralités concernant les algues et plus précisément la microalgue modèle (spiruline), ses caractéristiques (biologiques et écologiques), sa composition, les domaines dans lesquels elle est utilisée ainsi que les différentes techniques de culture existant actuellement à travers le monde.

Ensuite le deuxième chapitre, reflète les matériels et les méthodes utilisées au cours de ce travail. Dans ce chapitre, la culture de spiruline, les méthodes d'évaluation de la biomasse et les procédés d'extraction et de déterminations de la teneur en pigments photosynthétiques et en protéines sont détaillés et expliqués de manière simplifiée.

Les résultats obtenus sont présentés et discutés dans le troisième chapitre. Les conditions optimales de cultures y sont décrites et les effets des trois paramètres de culture sur la croissance et la productivité de l'*A, platensis* ainsi que leurs interactions sont exposées. Les résultats qui reflètent la qualité de notre spiruline sont aussi montrés dans cette partie.

Enfin, Conclusions et perspectives, cette partie permet de tirer un bilan global des différents travaux réalisés durant cette thèse. De même, des perspectives sont proposées dans la continuité de nos travaux de thèse.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Micro-algue modèle : La spiruline

I.1.1. La spiruline : Généralité

I.1.1.1. Historique

Avant l'arrivée des colons espagnols, les Aztèques étaient le peuple originel du Mexique. Malgré de faibles ressources agraires, leur aliment principal étant le maïs, ce peuple réussi à survivre pendant des siècles. S'est interrogé avec raison sur les moyens qui ont permis à la population du Mexique de survivre. [1]

La région de Mexico s'est construite autour de zones lacustres et bien que le poisson et les oiseaux du lac Texoco fournissaient un apport protéique, ils ne suffisaient pas à combler les besoins. Farrar suggéra que la source complémentaire de protéines émanait d'une ressource qui provenait du lac, appelée Tecuitlatl. [6]

De nombreux ouvrages de l'époque coloniale citaient déjà une certaine substance bleu-vert que les Aztèques utilisaient. Le tecuitlatl est un limen, sorte de purée considérée par les colons comme minéral, une terre, consommée par les paysans après avoir été séchée et broyée. De par son contenu qualitativement très remarquable, le tecuitlatl a joué un rôle important, sinon décisif, pour assurer une alimentation suffisante, correcte et équilibrée à la nation Aztèques. L'algue ne fut vraiment redécouverte que quelques 450 ans après par le botaniste belge J. Leonard lors d'une expédition belgo-française basée au Tchad (1964 - 1965). [7]

Ce dernier a en effet constaté que les Kanembous du sud Kanem écumaient la surface des mares aux environs du lac Tchad, mares riches en carbonates de sodium, à la recherche de la fameuse algue abondante sur ce lac et récoltée sous forme d'une purée bleu-verte. Cette purée était ensuite utilisée dans la préparation de gâteaux vendus dans la région et appelé≪ dihé ≫. [8]

Un phycologiste français Dangeard (1947) avait examiné ces gâteaux des 1940 et avait constaté qu'ils étaient faits d'une algue bleue comestible. Compère constata, en étudiant des échantillons qu'avait ramené Leonard de son expédition, qu'en effet les gâteaux contenaient essentiellement l'algue bleue *Spirulina platensis*. Les chercheurs belges démontreront qu'ils sont extrêmement riches en protéines. La spiruline est toujours consommée par les Kanembous du lac Tchad, sous le nom de Dihé. [9]

La redécouverte par Leonard des gâteaux de dihé faits de spirulines, a suscité beaucoup d'intérêt. Au vingtième siècle, l'histoire de la spiruline est liée à celle d'un personnage tout à fait fascinant, Christopher Hill. Cet Américain s'aperçut que la spiruline, cette petite algue dont personne ne s'occupait à l'époque offrait une solution extraordinaire aux problèmes nutritionnels de notre temps. Facile à « cultiver », puisqu'elle pousse toute seule dès qu'il y a un peu d'eau et de soleil, la spiruline représente l'un des aliments les plus fabuleux qui existe sur terre. [7]

Pendant des années, ce chercheur voyagea à travers le monde, fouilla dans les archives de l'histoire pour voir comment les anciens avaient utilisé la spiruline, rencontra des savants et fit des recherches non seulement dans des laboratoires mais aussi en lui-même. [7]

Christopher découvrit qu'en ne mangeant que de la spiruline pendant des semaines et même des mois, non seulement son corps physique jouissait d'une vitalité extraordinaire, mais son psychisme fonctionnait avec une puissance remarquable. [10]

L'étape suivante fut, pour Christopher, de se lancer dans la fabrication de spiruline, à grande échelle et de la proposer aux habitants des Etats-Unis comme supplément alimentaire capable de corriger les innombrables carences crées par les aliments dévitalisées qui remplissent les supermarchés. La spiruline connut un succès foudroyant en quelques mois, Christopher se trouva à la tête d'une grande entreprise de fabrication et de vente de spiruline. [7]

Christopher Hill a développé des produits dérivés de la spiruline qui, mélangés à des substances colloïdales, permettent d'apporter les éléments vivants vitaux directement à l'intérieur des cellules du corps. Avec ces approches nutritionnelles novatrices, la médecine va pouvoir utiliser le plus en plus des nutriments au lieu de médicaments, retrouvant ainsi la sagesse d'Hippocrate qui affirmait « que l'aliment soit ton médicament » [10]

I.1.1.2. Taxonomie

La spiruline est considérée souvent comme une algue planctonique microscopique. C'est en fait une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre Arthrospira, le plus souvent enroulée en spires (d'où son nom commercial). [11]

Tableau I.1. Les diverses appellations de la spiruline [8]

Spirulina	Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre Arthrospira
Spirulina	Nom commercial anglais de la même cyanobactérie.
Spirulina	Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des Arthrospira. Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de L'alimentation humain, et aucune n'est commercialisé à cette fin.
Arthrospira	Est le nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient notre spiruline alimentaire

Le tableau ci-après synthétise la taxonomie d'*Arthrospira platensis*

Tableau I.2. Position taxonomique [11]

Règne	Monera
Sous règne	Prokaryota
Phylum	Cyanophyta
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Nostocales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	Arthrospira
Espèces	*Arthrospira platensis*

Le genre Arthrospira est désormais admis par tous, au moins par les taxonomistes, comme nom pour les organismes utilisés dans la culture de masse. Dans le but de clarifier davantage la position systématique de l'Arthrospira spp. Couramment utilisé pour les opérations de culture de masse, Komárek et Anagnostidis (2005) et Komárek et Hauer (2011) ont récemment demandé un abandon définitif du nom commercial (Spiruline *Arthrospira platensis*), recommandant qu'il soit remplacé par le nom correct du point de vue taxonomique-*A. fusiformis*. [12]

I.1.1.3. Morphologie

La spiruline se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire bleu-vert, mobile, non ramifié et enroulé en spirale. Ce filament est appelé trichome [13] ; sa forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline ». [14]

La caractéristique morphologique principale du genre Arthrospira est l'arrangement typique de ses trichomes cylindriques multicellulaires dans une hélice ouverte généralement de diamètre relativement grand, parfois atténuée aux extrémités, et avec une paroi cellulaire visible (si les vacuoles à gaz ne sont pas trop nombreuses). [12]

Par ailleurs, contrairement à certaines autres cyanobactéries (Anabaena, Nostoc), *A.platensis* ne possède pas les cellules spécialisées permettant la fixation de l'azote (hétérocystes). [13]

Rich (1931) l'a décrit pour la première fois : « largeur du trichome 6 à 11µm, longueur des cellules 2-10µm, séries de granules entre les cellules, parois entre les cellules ; largeur des spirales vers le milieu 36-60µm, entre spires 15-16µm », ce qui correspond à la description originale de *Arthrospira platensis.* **(**Figure I.1) [11]

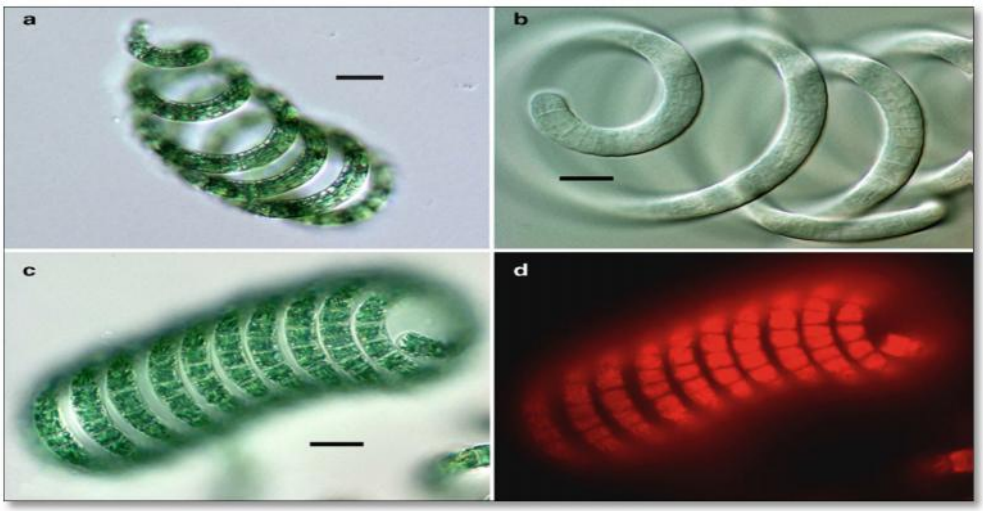


Figure I.1 : Aspects morphologiques d'*Arthrospira platensis (A. fusiformis)* isolées de Lac Kailala (Tchad). (a)des trichomes de clones cultivés en laboratoire ; (b) fixe du trichome sauvages en formaldéhyde (2 %) ; (c) des trichomes de clones cultivés dans la culture de masse ; (d) auto florescence de trichome illustré dans (c). Marqueur bar = 10 m m. [12]

Cependant, il y a des différences considérables dans le degré d'enroulement entre les différentes souches de la même espèce et à l'intérieur de la même souche, Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat. [15]

On distingue les souches "spiralées", "ondulées", et "droites" :

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



Figure I.2. Forme spiralée (type « Lonar ») [16]

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

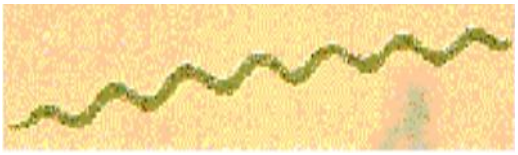


Figure I.3. Forme ondulée (type « Paracas ») [16]

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



Figure I.4. Forme droite (type « M2 ») [16]

Il semble que les conditions de laboratoires artificiels favorisent le développement des formes droites. [12]

I.1.1.4. Composition

La composition de la spiruline en éléments chimiques est variable selon les souches, les conditions de culture et le conditionnement, néanmoins il est possible d'en dresser un tableau (Tableau I.3) qui reprend ses teneurs moyennes :

Tableau I.3. Composition de la spiruline [17] [18] [15] [8]

Protéines	70% du poids sec, avec tous les AA y compris les AAE (acide aminée essentiel) et les acides aminés soufrés méthionine et cystéine.
Glucides	15 à 25 % du poids sec, très peu de glucides simples, surtout de Glucides complexes sous forme de polysaccharides membranaires aux propriétés immunostimulantes.
Lipides	Jusqu'à 11% maximum du poids sec, à noter la présence d'acide gamma-linolénique, AGE (acides gras essentiels) du groupe des oméga 6, précurseur des prostaglandines, des leucotriénes et des thromboxanes, médiateurs chimiques impliqués dans les processus immunitaires et inflamatoires.
Bêta-carotène (Ou provitamine A)	La spiruline est une source exceptionnelle de provitamine A, Jusqu'à 1800 mg par kilo, il participe au mécanisme de la vision, au métabolisme de la peau, au système immunitaire. C'est aussi un antioxydant particulièrement efficace.
Vitamine B12	La spiruline contient majoritairement de l'adéninylcobamide (dites pseudo-vitamine B12), une forme de vitamine B12 qualifiée d'inactive. Mais elle contiendrait également, et ce dans des proportions non négligeables, une forme active de vitamine B12, la méthylcobalamine. Elle est indispensable à la fabrication des globules rouges.
Vitamines du groupe B	Ces co-facteurs sont tous présents dans la spiruline, impliquée dans tous les métabolismes, la synthèse des hormones et enzymes, la transmission de l'influx nerveux, la production d'énergie, le système immunitaire.
Vitamine E ou tocophérol	Indispensable à la lutte contre les radicaux libres. Les teneurs en vitamine E de la Spiruline variant de 13 (Gomez-Coronado et al. 2004) à 120 µg/g (Vincenzini et al. 1979). Cette très forte variabilité des teneurs est liée probablement à des qualités de Spiruline différentes.
Sels minéraux et oligo-éléments	Nombreux comme le fer à forte concentration (seul fer végétal biodisponible) calcium à concentration supérieure à celle du lait de vache, phosphore, magnésium, cuivre, zinc, sélénium...etc.
Chlorophylle	La chlorophylle est l'un de des nombreux pigments de la spiruline, elle est Détoxiquante et purifainte.
Phycocyanine	*Arthrospira platensis* est une excellente source de phycocyanine. D'après Vonshak (1997), la fraction protéique pourrait contenir jusqu'à 20 % de phycocyanine. En outre, la forte teneur en ce pigment pourrait être d'un grand intérêt industriel.

I.1.1.5. Reproduction

Son mode de reproduction est la bipartition par scission simple. C'est une reproduction asexuée, par segmentation des filaments ; ce processus ne doit pas être confondu avec la mitose, laquelle n'existe que chez les eucaryotes. [20]

Sa vitesse de multiplication est particulièrement rapide dès que la température dépasse 30°C ; lorsque ces conditions sont réunies et que le milieu est favorable, le temps de génération est très court (7 heures). [13]

Le cycle de reproduction de *Arthrospira* en culture au laboratoire est plutôt simple ; un trichome mûr est divisé en plusieurs morceaux à travers la formation de cellules spécialisées appelées nécridies qui subissent elles même une lyse, donnant lieu à une séparation en disques biconcave. La fragmentation du trichome au niveau des nécridies produit plusieurs chaînes de cellules glissantes et courtes (deux à quatre cellules) appelés hormogonie, qui va se déplacer à travers le filament parental et donnant naissance à un nouveau trichome. Les cellules dans l'hormogonie perdent les portions attachées des cellules nécridiales et deviennent arrondis avec des parois non épaisses. Pendant ce processus, le cytoplasme paraît moins granulé et les cellules d'une couleur bleu-vert pâle. Le nombre de cellules dans l'hormogonie va augmenter par division cellulaire pendant que le cytoplasme devient granulé, et les cellules apparaissent d'une couleur bleu-vert brillante. Par ce processus ces trichomes assument parfaitement la forme hélicoïdale typique du genre et assurent la croissance et la dispersion de l'organisme.

(Figure I.5) [19]

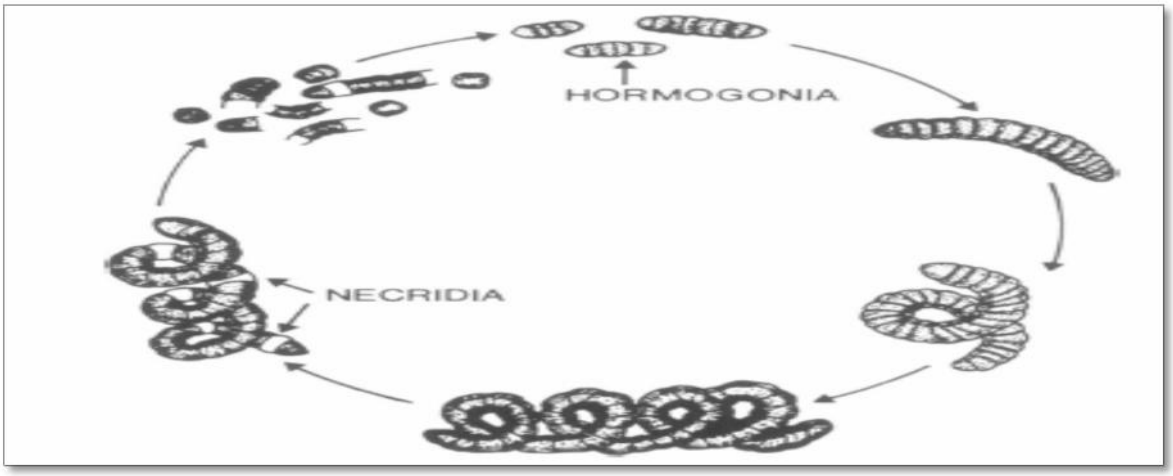


Figure I.5. Cycle de vie d'Arthrospira sp. [19]

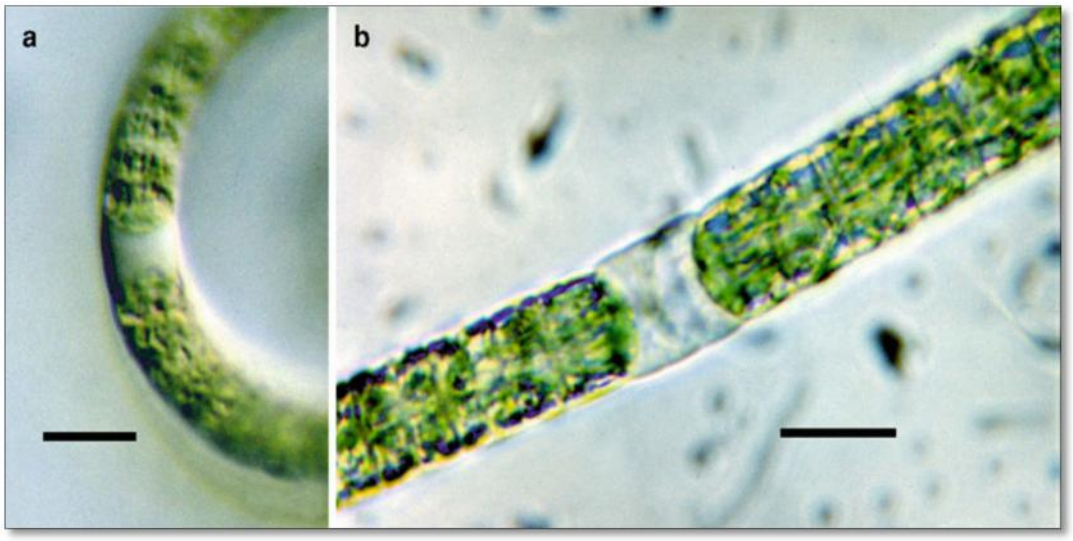


Figure I.6. fragmentation des trichomes du genre Arthrospira en culture au laboratoire. Marqueur bar = 10 mm [12]

I.1.1.6. Déplacement

La spiruline est capable d'effectuer deux types de déplacement : la motilité et la flottabilité. Le trichome exerce un mouvement oscillatoire, de forme hélicoïdale, en rotation autour du grand axe. La spiruline peut donc évoluer dans l'eau en se vissant ; ce déplacement s'effectue à la vitesse de 5µm par seconde. [21]

La spiruline peut également fabriquer des vésicules de gaz d'environ 70 nm de long et 10 nm de diamètre, faites d'une chaîne de protéines tissées. Ces vésicules ressemblent à des tubes creux cylindriques comportant des capuchons coniques. Elles se trouvent habituellement près des parois terminales des cellules et sont empilées les unes sur les autres. Elles se forment et se remplissent de gaz lorsque la lumière du soleil apparaît : tels des ballons dirigeables, elles permettent au filament de spiruline de remonter en surface pour recevoir la lumière et ainsi commencer la photosynthèse. [11]

Ces deux méthodes de locomotion permettent à la spiruline de se protéger elle-même contre une overdose mortelle de soleil. Les mouvements de circulation de bas en haut puis de haut en bas lui permettent d'absorber la juste quantité de lumière dont elle a besoin. [13]

I.1.2. L'appareil photosynthétique de Spiruline

Chez la spiruline, la photosynthèse constituant la clé de sa croissance, il paraît utile de faire quelques rappels concernant ce processus. [13]

La photosynthèse est un phénomène physiologique d'importance capitale, puisqu'il est indispensable à toute forme de vie animale et humaine. Grâce à ce processus, sous l'action de la lumière, un organisme photosynthétique peut élaborer de la matière organique indispensable à son développement. [13]

Pour sa photosynthèse, la spiruline a besoin d'eau, de carbone, et d'éléments nutritifs dont l'azote en particulier. Elle assimile une source de carbone minéral (le CO_2atmosphérique) et la convertit en énergie biochimiquement utilisable représentée par le glucose. [13]

I.1.2.1. Transfert d'énergie

L'énergie lumineuse utilisée pendant la photosynthèse est capturée par des pigments photosynthétiques tels que la chlorophylle, la phycocyanine, les caroténoïdes, etc. Tous ces pigments ont une gamme étendue de liaisons conjuguées. Cela leur permet d'interagir et d'absorber efficacement le rayonnement électromagnétique dans la gamme visible. Les qualités spectrales de ces pigments sont affectées non seulement par leur composition chimique, mais aussi par le milieu protéique qui les entoure. Typiquement, les bandes d'absorption des pigments complexés avec les protéines sont élargies en raison d'un fractionnement supplémentaire des niveaux d'énergie. Cela conduit à une récolte plus efficace de l'énergie lumineuse. [22]

La figure. I.7 ci-dessous présente l'ensemble des pigments qui absorbent une zone d'énergie radiante qui couvre tout le spectre visible.

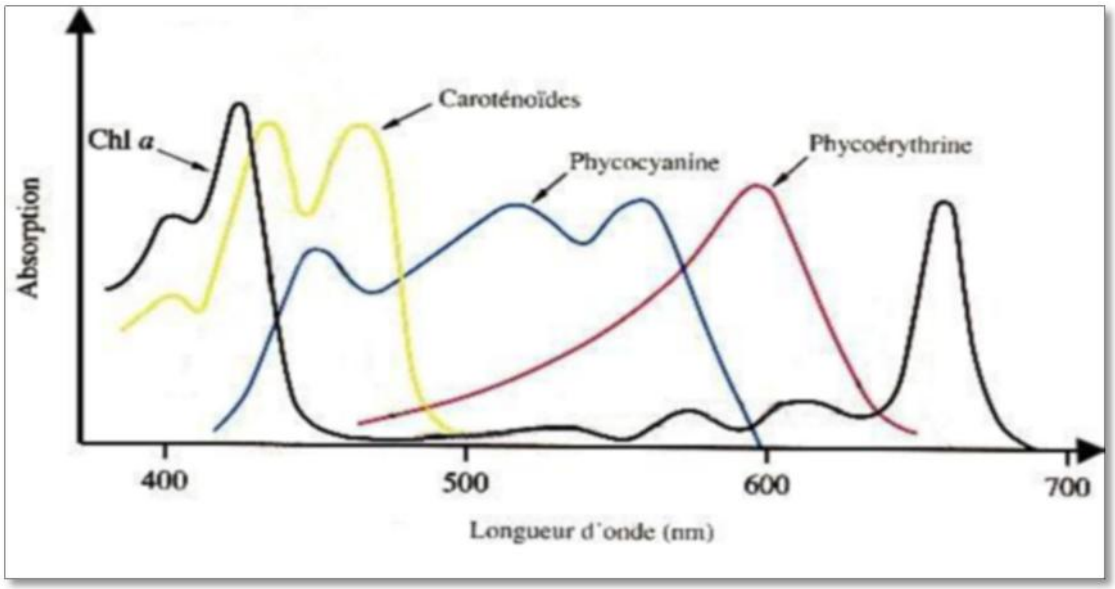


Figure I.7. Absorption de la lumière par les pigments photosynthétiques [11]

I.1.2.2. Transport d'électrons : Le processus de photosynthèse comprend deux phases distinctes : une série de réactions dites "Lumineuses" et une série de réactions dites "obscures". [22]

I.1.2.2.1. Les réactions lumineuses : nécessitent la présence de lumière et s'effectuent dans les membranes thylakoïdiennes, pour le cas de la spiruline. Cette lumière permet d'apporter l'énergie nécessaire à la réaction photosynthétique. Les thylakoïdes contiennent des pigments photosynthétiques organisés en deux photosystèmes : les photosystèmes I et II, respectivement notés PS I et PS II. C'est au niveau des membranes communes à deux thylakoïdes que se trouvent ces deux photosystèmes. (Figure I. 8)[13]

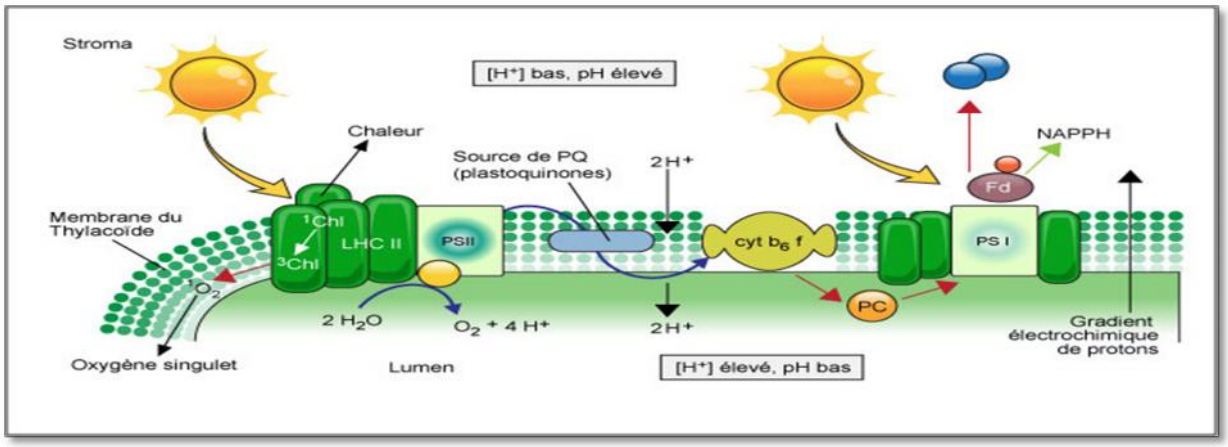


Figure I.8. L'absorption de l'énergie lumineuse et sa conversion en énergie chimique par une série de réactions de transfert d'électrons. [23]

Au cours de cette phase lumineuse, il y a photolyse de l'eau : les molécules d'oxygène et d'hydrogène se séparent. On assiste également à la synthèse d'ATP (Adénosine triphosphate), molécule dont la consommation libère beaucoup d'énergie, et de NADP (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate). [13]. Pour résumer, nous pouvons décrire le processus à l'aide d'une équation chimique simple :

$$2O + 12NADP + 12(ADP + P) \rightarrow 6O_2 + 12(NADPH + H^+) + 12ATP \ldots\ldots\ldots\text{(I.1) [22]}$$

I.1.2.2.2. Les réactions obscures : sont purement enzymatiques et utilisent l'énergie générée par les réactions lumineuses pour convertir le CO_2 en hydrates de carbone. Ces réactions sont effectuées dans le stroma du chloroplaste (dans les plantes supérieures) et dans le cytoplasme, dans le cas de spiruline. Ces réactions forment le cycle de Calvin. [13]

Ces réactions non directement dépendantes de la lumière, dites « phase obscure » ou « phase sombre », dont l'équation générale peut s'écrire :

$18ATP + 12(NADPH + H^+) + 6CO_2 \rightarrow 18ADP + P + 12NADP + 6H_2O + C_6H_{12}O_6$…….. (I.2) [22]

La formule générale de la photosynthèse peut donc s'écrire de la façon suivante :

Énergie lumineuse

$6CO_2 + 12H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 + 6H_2O$……..(I.3) [22]

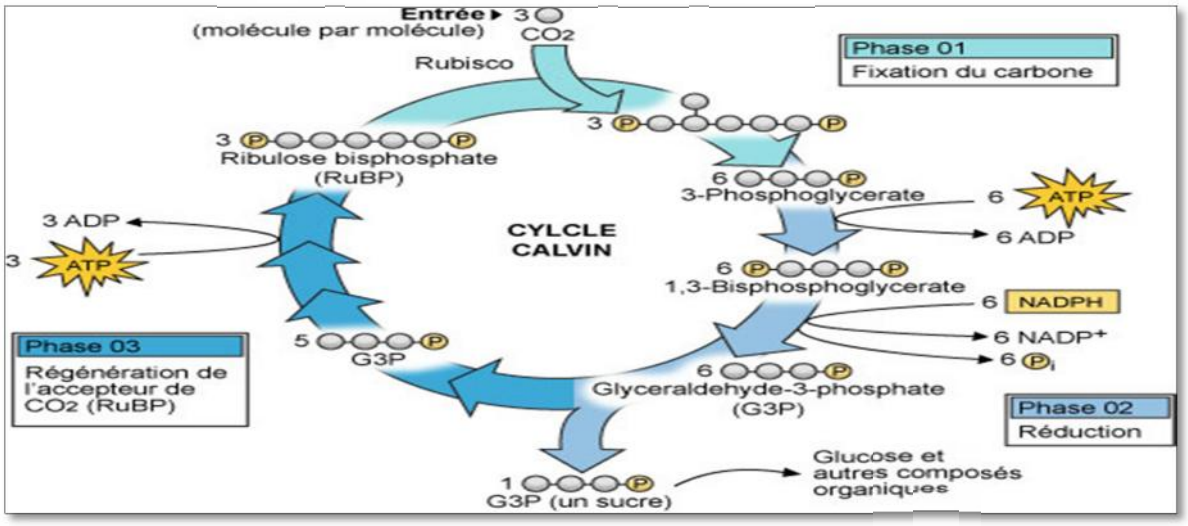


Figure I.9. Schéma de cycle de Calvin montrant l'incorporation du CO_2 au cours de la phase chimique / photochimique de la photosynthèse [23]

I.1.3. Habitat et répartition géographique

Ce qui distingue le genre Arthrospira des autres cyanobactéries, c'est le milieu naturel où elles vivent. En effet, les spirulines prolifèrent dans les eaux très minéralisées, extrêmement alcalines et chaudes. Ces conditions environnementales très contraignantes excluent la plupart des autres êtres vivants. [13]

A l'état naturel, la spiruline est donc retrouvée dans les lacs de la ceinture intertropicale du globe terrestre, dont les eaux sont riches en carbonate de sodium (Na_2CO_3), bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$), divers minéraux et une source d'azote fixé. On trouve de tels lacs sur tous les continents, très souvent près des volcans et anciens cratères, ainsi que dans les déserts, là où se ramasse l'eau minérale des montagnes .Ces lacs sont situés approximativement entre 35 ° de latitude Nord et 35 ° de latitude Sud. [11]

Elle est capable de se développer dans des milieux extrêmes, où l'eau peut occasionnellement atteindre des salinités avoisinant les 20 %. [7]

Sa forte plasticité écologique lui permet de se retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en

Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe. (Voir annexe I) [15]

I.1.4. Les multiples usages de la spiruline

I.1.4.1. Spiruline à usage humain

I.1.4.1.1. La santé

Dans les pays développés, et depuis peu dans quelques régions d'Afrique, la Spiruline est consommée comme complément alimentaire « bénéfique à la santé ». [15] Elle est vendue dans le secteur des produits dits « Bio ». Nous présentons ci-dessous certaines utilisations.

La spiruline est utilisée :

- Pour une alimentation équilibrée, dans les régimes amaigrissants, pour l'amélioration des capacités sportives, pour lutter contre l'asthénie, pour ses effets sur la sénescence.
- Pour son activité antioxydante, anticoagulante, antivirale, antitumorale, pour diminuer le cholestérol et renforcer le système immunitaire.
- Pour ses autres actions sur la santé : une diminution du diabète chez l'homme (24) ; une activité anti-inflammatoire sur les articulations [25] ; une hépato protection ; un effet possible de la molécule Spirulane-sodique dans la prévention de l'athérosclérose. [15]

I.1.4.1.2. Cosmétique :

En cosmétique, la Spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, grâce à son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus. [26] Elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique. [15]

I.1.4.1.3. Agroalimentaire

Dans l'agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline. [15]

I.1.4.1.4. Énergétique

Le potentiel des microalgues pour la mise en place de nouvelles filières de bioénergie, à partir de leurs constituants polysaccharidiques (bioéthanol, biogaz) ou lipidiques (biodiesel,

biokérosène) ou même directement de leur biomasse est lié à leur grande biodiversité, non encore complètement explorée, à leur productivité espérée et au fait que leur production n'entre pas en compétition avec les cultures vivrières. En dépit de leur intérêt, les applications industrielles des microalgues restent limitées. [27]

I.1.4.1.5. Environnemental

Les microalgues, comme d'autres plantes, sont des outils rendant des services environnementaux dans le traitement des déchets. Depuis longtemps utilisées en traitement de l'eau, elles peuvent capter du carbone, de l'urée, des nitrates, des phosphates. La biomasse produite doit être utilisée en remplacement d'autres ressources au bilan environnemental moins intéressant. Se développent également des applications en bioremédiation, notamment pour capter des métaux lourds, des lanthanides et actinides. [27]

I.1.4.2. Spiruline à usage animal

La spiruline est utilisée comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture, en Agroalimentaire, pour des effets très spécifiques : [15]

- Favoriser la croissance et la fertilité
- Renforcer les défenses immunitaires

En aquaculture, la Spiruline est ajoutée aux granulés dans la nourriture des poissons d'élevage, plus souvent soumis à des infections virales et/ou bactériennes que les poissons sauvages. Watanuki et al. (2006) ont mis en évidence l'effet immunostimulant de *Arthrospira platensis* chez la carpe *Cyprinus carpio*.

Des vétérinaires préconisent l'administration de Spiruline à des animaux domestiques.

- Pour augmenter la pigmentation

La Spiruline est utilisée pour ses pigments :

• En aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement. [28]

• En aquaculture pour améliorer la pigmentation des crevettes et des poissons. [29]

• En agroalimentaire pour rendre les œufs et la chair de poulet plus attrayants au consommateur par les caroténoïdes qu'elle contient. [30-32]

Pour améliorer les performances des animaux .Elle est vendue comme additif à la nutrition des taureaux reproducteurs, des chevaux de course. [15]

I.2. Culture des micro-organismes photosynthétique

I.2.1. Croissance

La dénomination « micro-organismes photosynthétiques » regroupe les organismes microscopiques dont la croissance s'effectue par photosynthèse. Cela regroupe les microalgues et les cyanobactéries (cellules végétales, nommées ici « microalgues » et abrégées µ A) ainsi que certaines bactéries. [4] La croissance des microalgues est basée sur le même principe que celle des plantes supérieures. En milieu aqueux, la lumière leur permet de croître par absorption des minéraux nécessaires et du carbone inorganique. Les systèmes de culture nécessitent un maintien de conditions physico-chimiques adéquates (pH, température *T*, force ionique...) et les apports suivants :

– lumière solaire ou artificielle, dans la gamme de longueurs d'onde actives pour la photosynthèse : 380 nm à 780 nm ;
– carbone dissous (inorganique en mode de production autotrophe) ;

– nutriments minéraux : azote sous forme nitrate ou ammonium, sulfate, phosphate, traces métalliques (Mg, Ca, Mn, Cu, Fe, etc.).[4]

I.2.2. Technologies de production

I.2.2.1. Historique

Les premières cultures en milieu artificiel remontent à la fin du XIXe siècle, avec mise en évidence du besoin de sels inorganiques nutritifs (travaux du botaniste Famintzin en 1871).

Ensuite viendront l'isolement de souches pour des cultures spécifiques et les premières études sur la nutrition microalgale. Les premiers procédés intensifs datent de la 2éme guerre mondiale, pour trouver des solutions au ravitaillement des troupes allemandes. [4] Ces efforts furent repris par des pays voyant dans les microalgues une source de protéines, mais butèrent rapidement sur la maîtrise des paramètres de culture et la définition des procédés adaptés. Dans les années 1970, l'intérêt s'est porté vers le traitement des déchets puis, suite aux crises pétrolières, vers l'utilisation de cette bioressource comme solution alternative aux problèmes énergétiques, ou comme moyen de production de produits chimiques. [4]

Conséquence de cette histoire mouvementée, il existe aujourd'hui une grande diversité de photobioréacteurs les principales catégories sont présentées ci-dessous sont, avec leurs avantages et inconvénients. [4]

I.2.2.2. Diversité technologique

Les systèmes de production se distinguent par l'utilisation du rayonnement solaire ou d'une source de lumière artificielle (tubes fluorescents, lampes à décharge, DEL). Ils peuvent être ouverts à l'ambiant ou clos (photobioréacteur). Le mode d'exploitation du flux lumineux détermine également deux principes de fonctionnement : la captation directe, où la lumière pénètre dans la culture par la surface exposée, ou l'éclairage interne avec immersion des sources lumineuses. Le second principe, né à la fin des années 1980, vise à concevoir des systèmes aux productivités extrapolables en volume (contrairement à l'éclairage externe qui s'extrapole en surface). [4]

I.2.2.3. Technologies solaires

Le soleil est une source gratuite, illimitée, avec des intensités élevées supérieures à la plupart des sources artificielles. Cette énergie est toutefois très fluctuante (cycles jours/nuits, saisons, passages nuageux...), rendant complexe l'utilisation optimale de l'énergie reçue [33]. Les optima de croissance sont aussi difficiles à maintenir. La température augmente ainsi en cours de journée pour redescendre la nuit. En système ouvert, cela peut mener à une forte évaporation dont les effets sont d'autant plus notables que la surface spécifique est élevée, et en système fermé, du fait du confinement, des échauffements excessifs sont possibles. [4]

I.2.2.3.1. Systèmes ouverts

Par principe, la culture ouverte nécessite des espèces robustes à la contamination. Elle est également peu contrôlée (maîtrise faible des paramètres physico-chimiques) et très dépendante des variations saisonnières et climatiques (production restreinte aux saisons propices). L'évaporation forte induit une consommation en eau élevée (qui limite néanmoins l'élévation de la température de culture). [4]

Ce principe souffre souvent d'une double limitation par la lumière et par l'apport en carbone, du fait d'un contact important avec l'air ambiant l'ajout de bicarbonates ou la prédissolution du CO_2 sont de plus peu efficaces (remise en équilibre avec l'atmosphère). La concentration atteinte en biomasse est donc faible, avec une récolte alors laborieuse. Il en ressort que, malgré des coûts d'investissement faibles, l'économie de la production en ciel ouvert est obérée par des coûts indirects élevés pour extraire et purifier le produit final. [4]

Toutefois, la culture solaire en bassin ouvert est largement répandue, car de réalisation simple et facilement extensible sur des grandes surfaces. Aujourd'hui, une grande partie de la production (estimée à 5 000-10 000 t/an) vient de ces systèmes, par la culture notamment de

certaines espèces extrêmophiles. L'application visée est souvent la biomasse. Les applications ciblées sont plus rares : production de β-carotène à partir de *Dunaliella salina*, d'astaxanthine à partir d'*Haematococcus pluvialis* et, dans une moindre mesure, dépollution (projet « Earthrise Farm » en Californie, surface de 22 ha). Cette technologie se retrouve dans les zones à faible coût d'occupation du sol (inhabitées voire désertiques), à fort ensoleillement, avec une période estivale longue : Espagne, Italie, Australie, Israël. [4]

I.2.2.3.1.1. Technologies existantes

I.2.2.3.1.1.1. Bassins de lagunages, étangs

Lorsque les conditions climatiques s'y prêtent et la teneur en nutriments est suffisante, les microalgues peuvent se développer en eaux naturelles. Un pH ou une salinité élevée peuvent favoriser une espèce, causant une eutrophisation du milieu. C'est le cas de *Dunaliella salina* riche en β-carotène que l'on retrouve fréquemment dans les marais salants leur donnant une couleur orange (figure **I.10**). [4]

Cette croissance extensive en milieu naturel par eutrophisation est exploitée en Australie par les sociétés Western Biotechnology sur 250 ha (environ 6 t/an de β-carotène) et Betatene sur 460 ha (7 à 10 t/an). Les lagunes profondes de près de 50 cm ne sont agitées que par le vent et la convection naturelle. La productivité n'excède pas 1 g/ (m2 · jour) avec une concentration cellulaire très faible (< 0,1 g/L) nécessitant un dispositif de récolte efficace. [4]



Figure I.10. Marais salant à Guérande (Loire atlantique)

Cependant, des bassins circulaires : principalement utilisés en Asie pour la culture de C*hlorella,* ils nécessitent un fort investissement en matériel et leur agitation, par un bras rotatif placé au centre, consomme beaucoup d'énergie. [34][35]

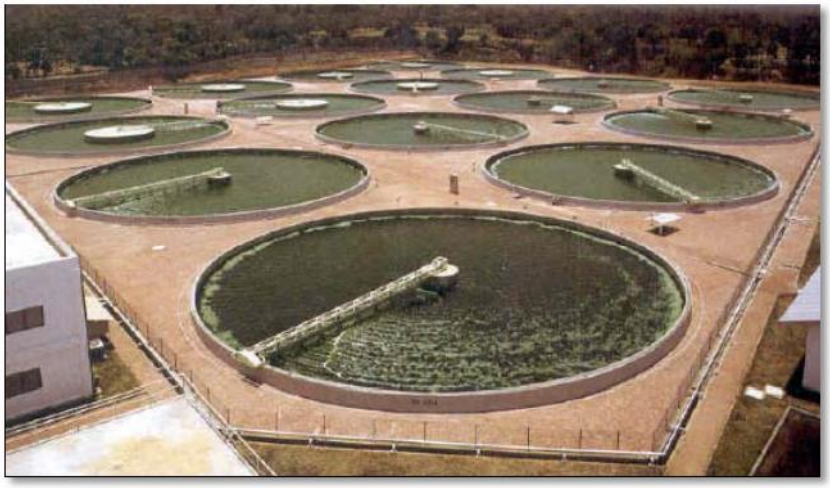


Figure I.11. bassin circulaires [34,35]

I.2.2.3.1.1.2 Raceways

Moins rustique que le lagunage, le raceway est la technologie ouverte largement répandue qui donne les meilleurs résultats. Une mise en circulation des cultures est effectuée par une roue à aubes dans un chenal en boucle (principe des chenaux d'aération en traitement des eaux). Les principes de design et construction des *raceways* ont été examinés par Dodd [36] et Oswald [37]. La construction est simple et peu coûteuse (fossé recouvert d'une feuille d'étanchéité, système hors-sol à paroi solide soit en brique recouverte d'un film, soit en plastique rigide).

L'épaisseur de culture est un compromis entre le besoin d'agiter la culture et d'obtenir une surface spécifique élevée. [4] Elle est ainsi de l'ordre de 20 à 30 cm (surface spécifique 3 à 5 m^{-1}). La concentration cellulaire obtenue (≤0,5 g/L) est à peine supérieure au lagunage. La productivité surfacique atteint 40 g/ (m^2 · jour) en prototype, mais excède rarement 20 g/ (m^2 · j) sur de courtes périodes estivales, avec une moyenne annuelle de 8 g/ (m^2 · j). Ce système est bien adapté à la culture en pH alcalin favorable à une concentration en carbone dissous plus élevée qu'à pH neutre. De grands systèmes sont exploités aux États-Unis, dans les régions à fort ensoleillement comme Hawaï et la Californie, pour la culture d'*Arthrospira platensis* et d'*Haematococcus pluvialis*, en Israël et en Inde pour la production de *Dunaliella salina* (figure **I. 12**). [4]



Figure I.12. Culture en raceways de Spiruline en Californie (22 ha) [4]

I.2.2.3.2 Systèmes clos

La culture en milieu isolé de l'extérieur se fait en système appelé « photobioréacteur ». Le confinement élargit la possibilité de culture à des espèces pas nécessairement résistantes à la contamination, même si, pour des installations de grande taille, un contrôle poussé de l'axénie reste délicat. Un meilleur contrôle des conditions de croissance (pH, *T*, carbone dissous), des échanges gaz-liquide est également obtenu. Enfin, l'évaporation y est quasi nulle.

Étant des technologies plus avancées que les systèmes ouverts, les inconvénients sont le coût et la complexité d'extrapolation sur des grandes surfaces. [4] Le fonctionnement clos a également tendance à mener à un échauffement de la culture, en particulier du fait de la captation solaire élevée souvent recherchée, le rayonnement solaire contenant une part élevée d'infrarouges (≈ 55 %). Les photobioréacteurs intègrent donc souvent des systèmes de refroidissement, soit par aspersion d'eau, qui peut provoquer des dépôts minéraux sur les faces optiques, soit par immersion en bassin thermorégulé. L'hydrodynamique du système a aussi un rôle majeur, en particulier pour éviter la formation de biofilms sur les parois optiques. [4]

I.2.2.3.2.1. Technologies existantes

I.2.2.3.2.1.1 Photobioréacteurs tubulaires et cylindriques

Les géométries cylindriques et tubulaires se prêtent bien aux contraintes des photobioréacteurs, avec une bonne circulation et tenue en pression, et une courbure exposée favorable à la surface éclairée. Les photobioréacteurs cylindriques reprennent le principe des colonnes à bulles ou intègrent une zone ascendante d'aération et une zone descendante, sur le principe *airlift*. Ils sont généralement placés verticalement avec une injection de gaz en bas de

colonne. Le concept est simple mais peu favorable aux productivités élevées car les diamètres importants (≥10 cm) mènent à des surfaces spécifiques éclairées faibles.

La disposition verticale n'est également pas idéale pour la captation du flux solaire. Le dimensionnement est cependant facilité par l'abondante littérature éprouvée sur de nombreuses autres applications. [4]

Une alternative permettant une installation de grande taille consiste à réaliser une boucle de circulation à partir de tubes droits, disposés en série. Une partie (souvent placée horizontalement au sol) collecte la lumière, l'autre assurant la mise en circulation (pompes, *airlifts*), les transferts de gaz et l'apport en nutriments. Les tubes de petits diamètres (quelques cm) utilisés augmentent la surface spécifique éclairée mais aussi la possibilité de biofilms et les pertes de charge. Le système de mise en circulation doit être puissant sans toutefois générer de cisaillements néfastes, ce qui limite la longueur de tubes. Dans le cas de longueurs élevées, le comportement hydrodynamique se rapproche du réacteur piston, avec une régulation complexe et des hétérogénéités de comportement biologique.

En photobioréacteur exposé à un flux lumineux élevé (cas de l'éclairage direct), des temps d'exposition trop longs peuvent mener par photo-inhibition à des pertes de rendement. Il est alors nécessaire de mélanger suivant l'épaisseur, pour provoquer un renouvellement des cellules au droit de la source lumineuse, ce qui n'est pas aisé dans des tubes droits longs, où l'écoulement tend vers l'axialité. [4]

L'accumulation d'O_2 est aussi une préoccupation, surtout en tubes horizontaux. L'accumulation de poches d'O_2 quasi pur mène à une teneur en O_2 dissous élevée. Les effets ne sont cependant pas clairs, mais une tendance à un impact négatif est recensée en particulier lors d'une exposition intense au soleil (midi). (Figure I.13) [4]



Figure .13 . Photobioréacteur tubulaire solaire de Roquette [38]

2.2.3.2.1.2. Photobioréacteurs plans

La géométrie plane s'impose comme une possibilité de conception par analogie au panneau photovoltaïque. Pour une surface spécifique d'éclairement élevée, ces photobioréacteurs ont une épaisseur de 1 à 10 cm. Ils sont orientables, avec une inclinaison ajustable suivant les saisons (ce que peut difficilement faire une technologie tubulaire). Pour des raisons pratiques, les systèmes solaires sont souvent placés verticalement, avec un encombrement au sol alors réduit. Ce fonctionnement vertical est adapté aux latitudes élevées car une bonne captation moyenne en cours de journée est alors conservée. [4]

Augmenter la taille d'un photobioréacteur vertical ou incliné est problématique à cause de la pression hydrostatique, sauf ajustement de l'épaisseur du matériau avec risque de diminuer sa transmission optique, et/ou ajout de structures de maintien (barres de renfort). L'utilisation de géométries planes passe donc le plus souvent par la duplication d'unités de base, fonctionnant en série ou en parallèle, et donc modulaires. Un autre inconvénient est la présence de zones à faible mélange (coins). Le principe est sensible au problème des biofilms, problème accentué ici par le besoin d'une faible épaisseur. [4]

La géométrie plane se trouve donc parfois sous forme de sacs jetables souples, simples ou thermoformés alvéolaires, accrochés sur des structures. Ces systèmes à usage unique ont une durée de vie de quelques mois (figure I.14).



Figure I.14. photobioréacteur plan en plastique thermoformé

Ce principe de conception a été repris par l'université de Nantes (GEPEA) pour développer un système à très forte surface spécifique (470 m^{-1}). Ce réacteur « AlgoFilm » permet un fonctionnement solaire en haute concentration (> 10 g/L), et donc d'atteindre de très

fortes productivités volumiques (5 $g.l^{-1}\cdot j$). Il intègre des systèmes passifs de régulation thermique (figure I.15).



Figure I.15. Photobioréacteur solaire plan « AlgoFilm » à inclinaison variable et très haute productivité volumique développé au GEPEA (Épaisseur de culture < 1 cm) [39,40]

I.2.2.3.2.1.3. Photobioréacteurs solaires à éclairage interne

Le concept de photobioréacteur à éclairage interne est né à la fin des années 1980 [41,42], sur la base de l'utilisation de tubes fluorescents, en vue de concevoir des systèmes extrapolables en volume (ce qui n'est pas le cas des réacteurs à éclairage externe qui s'extrapolent en surface), suivis de nombreux autres concepts de laboratoire dans les années 1990 à 2000 [43,44]. Les fibres optiques à diffusion latérale (FODL) sont aussi utilisées pour conduire la lumière solaire à l'intérieur, les premiers prototypes de quelques litres [45,46].

Les développements actuels se portent sur la captation solaire [47,48] et sur des diffuseurs plans en photobioréacteur pouvant atteindre 40 L [49,50] sur l'idée originelle de Janssen *et al.* [51]. Ces systèmes à éclairage solaire en volume n'en sont qu'à leurs balbutiements. Le seul résultat expérimental probant a été obtenu sur *Chlorella pyrenoïdosa* [45] dans un photobioréacteur de 3,5 L et surface de captation solaire de 0,173 m^2 (miroirs de Fresnel), avec une productivité volumique de 0,12 t/ (m^3 · an).

Il reste un considérable travail de développement pour estimer la rentabilité de ces systèmes qui atteindront certainement un degré de raffinement technologique important. Très récemment, ce concept a été formalisé plus théoriquement par les auteurs [52] avec l'introduction de la technologie de photobioréacteur à dilution contrôlée du flux en volume

(DiCoFluV) qui a conduit à la réalisation d'un démonstrateur de 25 L utiles (figure I.16) en cours de caractérisation.



Figure I.16. Photobioréacteur solaire à dilution contrôlée du flux en volume (DiCoFluV) développé au LGCB

Le rayonnement solaire, capté et concentré par des lentilles de Fresnel (système du laboratoire PROMES) est dilué et utilisé à l'optimum thermodynamique à l'intérieur d'un réacteur cylindrique de type gazosiphon [53]

I.2.2.3.2.1.4. Photobioréacteurs à lumière artificielle

Une source artificielle (tubes fluorescents, LED) permet une illumination continue contrôlée en intensité, sans les contraintes solaires. Cela permet aussi l'installation en intérieur.

Ce type de réacteur est employé pour la production de biomasse ou d'une molécule cible en faible quantité. [4]

La culture peut être au contact de l'extérieur, comme c'est le cas couramment en écloserie où les microalgues de fourrage sont cultivées dans des bacs cylindriques à l'air libre, éclairés par tubes fluorescents. Plus généralement, la lumière artificielle est associée à un fonctionnement clos (figure I.17).

La maîtrise de l'énergie lumineuse et le contrôle strict des conditions assurent alors une stabilité essentielle à la synthèse des molécules à haute valeur ajoutée. Bien qu'initialement marginal, le nombre de ces systèmes est croissant, car il permet de proposer les productivités les plus élevées adaptées à des applications spécifiques. [4]



Figure .17. Photobioréacteur de type colonne à bulles (GEPEA, université de Nantes)

I.2.2.3.2.2. Paramètres influençant le rendement des photobioréacteurs

Le rendement de photobioréacteurs est influencé par plusieurs paramètres tel que la lumière, l'épaisseur, l'orientation de PBR ainsi que le matériel de construction

I.2.2.3.2.2.1. Apport en lumière

Du fait des besoins importants des microalgues (µA) en énergie lumineuse, un flux élevé de photons doit être transféré au sein du milieu de culture, où il sera absorbé. [4] (figure I.18)

La forte pigmentation des cellules cause une rapide atténuation de la lumière disponible dans le milieu, problème accentué lorsque la concentration augmente. [4] La fourniture de lumière fait donc intervenir deux notions antagonistes :

Éclairer suffisamment les microalgues et obtenir des concentrations élevées pour en faciliter la récolte. De plus, l'activité photosynthétique n'a pas une réponse linéaire à la lumière reçue (caractérisée par l'irradiance *G*), mais présente une saturation progressive jusqu'à une valeur limite (irradiance de saturation *G*s) au-delà de laquelle l'excès de lumière peut mener à des effets de photo-inhibition. Il existe également une valeur minimale *G*c (irradiance de compensation) pour que la croissance ait lieu. Au final, la non-linéarité de l'atténuation lumineuse conjuguée à la réponse biologique rendent complexes les outils d'ingénierie pour dimensionner et contrôler les systèmes de culture [4]. L'atténuation mène ainsi à distinguer une zone éclairée (irradiance reçue $G>Gc$), une zone sombre ($G< Gc$) et une zone potentiellement

photo-inhibée (*G*> *G*s) (la photo-inhibition étant également fonction du temps d'exposition, donc du mélange hydrodynamique). [4]

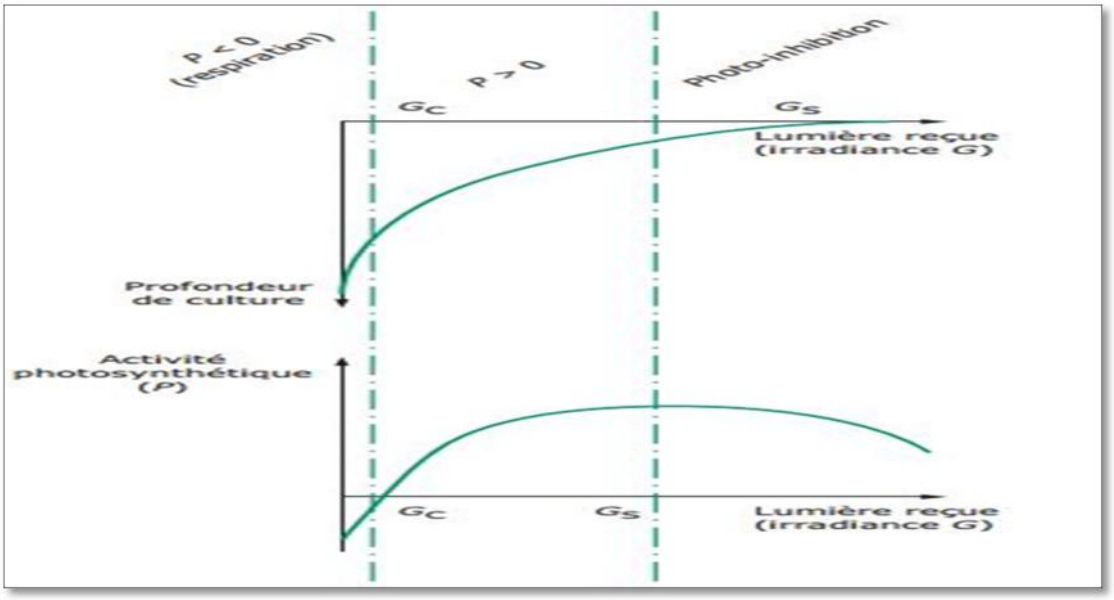


Figure I.18. Atténuation de la lumière dans une culture de microalgues et réponse photosynthétique associée [4]

I.2.2.3.2.2.2. Epaisseur du photobioréacteur

D'un point de vue conception, il est essentiel également de maximiser les surfaces éclairées au regard des volumes mis en jeu. Cela mène à des géométries particulières (planes, tubulaires...) à surfaces spécifiques élevées et épaisseurs de culture faibles. [4]

Du fait de la forte absorption par la suspension, des épaisseurs de quelques cm à dizaines de cm sont usuellement employées. À noter qu'une forte absorption permet des flux incidents très élevés, bien supérieurs aux valeurs de saturation G. (Figure I.19) [54,55]

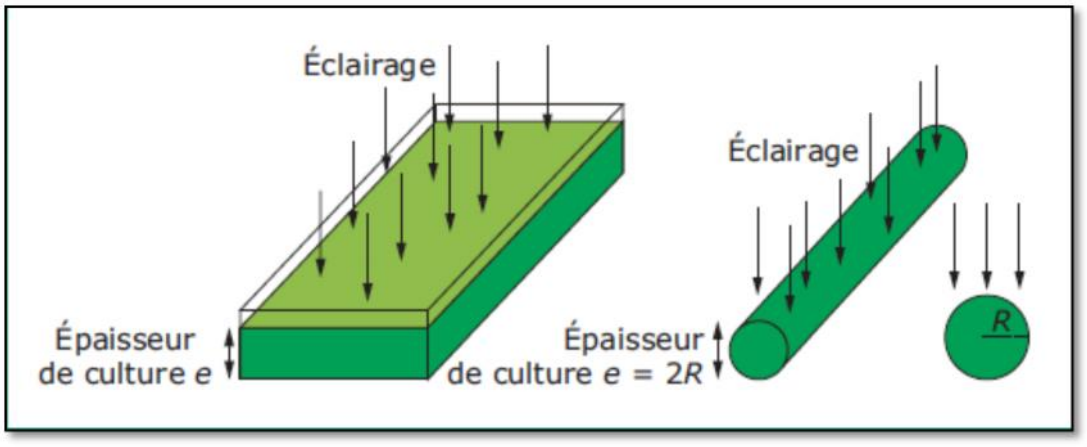


Figure I.19. Géométries types de photobioréacteurs (planes et tubulaires) [4]

I.2.2.3.2.2.3. L’Angle d’inclinaison du réacteur

En raison de son contrôle sur la quantité de rayonnement solaire entrant dans le réacteur, l'angle d'inclinaison du réacteur exerce un effet important sur la densité de population optimale et donc sur la productivité de la masse cellulaire.

Une relation directe entre l'énergie solaire et la productivité a été observée : Plus la quantité d'énergie solaire qui a été admis par la variation de l'angle d'inclinaison du réacteur en fonction de la saison, plus la productivité a pu être maintenue dans la culture. Les petits angles d'inclinaison de 10° à 30° en été et plus grands angles, dans les environs de 60° en hiver, a abouti à la productivité maximale pour ces saisons [56]. Une augmentation de près de 35 % de la productivité a été obtenu l'angle optimal pour chaque saison a été créé tout au long de l'année. [55]

Il est utile de noter, l'effet de l'orientation du réacteur, devrait devenir plus important que la latitude géographique devient plus élevé, où la disponibilité de la lumière du soleil est plus faible qu'à l'Équateur. [55]

I.2.2.3.2.2.4. Matériaux de construction

Un critère fondamental pour la construction d'un PBR approprié est le matériau utilisé pour le photostage. Le matériau doit être biocompatible, permettre un échange de chaleur et être transparent pour les faces optiques. Polycarbonate ou verre sont employés pour les systèmes de taille modeste. Pour les installations plus grandes, le polyéthylène et le plexiglas sont adaptés. [4]

Les matériaux pour PBR ne doivent pas avoir de toxicité élevée, haute résistance mécanique, de haute durabilité (résistance à intempéries), la stabilité chimique et le faible coût. La facilité de nettoyage est également un autre problème opérationnel important. La perte de transparence de plusieurs plastiques exposés à l'extérieur a été étudiée. [34,57]

I.2.2.3.2.2.5. Apport de carbone et de nutriments

Idéalement, l’apport doit maintenir une concentration non limitante, sauf cas particulier où une carence volontaire induit une réponse biologique répondant à un objectif de production, comme la suraccumulation d’un métabolite. Cet apport est calculé sur la base des besoins de la µA ou par mesure de la concentration résiduelle dans le milieu. L’apport peut se faire en début de culture (mode *batch*), en continu ou semi-continu. [4]

Pour cette raison, dans la production à l'échelle commerciale, il est possible de mettre en place une instrumentation pour la mesure des nutriments sélectionnés et le contrôle par

compensation automatisée d'entre eux. Néanmoins, cela entraîne un investissement initial élevé et un coût opérationnel élevé. Alternativement, il est possible d'estimer la quantité requise de nutriments et l'additionné pendant la culture, en tenant compte d'une culture standard.

Les principales exigences absolues comprennent le carbone, le phosphore, l'azote, le soufre, le potassium et le magnésium. Des éléments comme le fer et le manganèse sont requis en petit montants. Divers autres éléments comme le cobalt, le zinc, le bore, le cuivre et le molybdène sont des oligo-éléments essentiels. En plus de ces minéraux de base, plusieurs algues peuvent nécessitent des substrats organiques supplémentaires (vitamines, acides nucléiques, facteurs de croissance) pour leur croissance. [58]

I.2.2.3.2.2.6. Agitation

Le mélange est un paramètre clé pour une performance acceptable des bioréacteurs. Les faible taux de mélange entravent le transfert de masse gazeux et pourraient même permettre la décantation de la biomasse. Dans tous les cas, un mauvais mélange conduit à l'émergence de zones stagnantes, où la lumière et les nutriments sont insuffisamment disponibles .Des conditions anoxique / anaérobies prévalent, ce qui entraîne une diminution de la productivité. La viabilité de la culture pourrait également être compromise par la production et l'accumulation de composés toxiques dans les zones stagnantes.

À l'inverse, des taux de mélange élevés peuvent causer des dommages au cisaillement des cellules, Nécessitant en plus une grande entrée d'énergie.

Les méthodes les plus courantes de mélange dans les bioréacteurs microalguales sont le pompage, l'agitation mécanique et l'injection de gaz. [59]

I.2.2.3.2.2.7. Effets de la température

La productivité maximale ne peut être obtenue qu'aux températures optimales de croissance. Pour la surveillance de la température, les thermomètres classiques en mercure sont utiles, mais malheureusement facilement cassables. Récemment, les thermomètres numériques se révèlent très utiles, durables et économiques.

Des températures constantes dans toutes les cultures sont souhaitées. Dans un laboratoire, c'est possible d'avoir une stabilité thermique dans une pièce à température contrôlée, même en utilisant un équipement de conditionnement de l'air ou un appareil de chauffage thermostatique pour des températures plus élevées. [58]

Les PBR à l'extérieur nécessitent généralement un refroidissement à midi. Ombrage, immersion dans un bain-marie et la pulvérisation d'eau sont les solutions les plus communes

adoptées pour éviter le surchauffage de PBR à l'extérieur. L'ombrage, peut être efficace, or il exige qu'une grande partie du réacteur (jusqu'à 80%) doive ouverte pendant les heures de maximum insolation, ce qui entraîne une réduction significative de la productivité. Le refroidissement par l'immersion dans un bain-marie est efficace, mais sa rentabilité est plutôt douteux. Le refroidissement par pulvérisation d'eau peut être fiable et rentable dans les climats secs. Les considérations économiques favorisent le refroidissement par évaporation utilisation d'échangeurs de chaleur. [55]

I.2.2.3.2.2.8. Effets du pH

Un autre facteur important dans la culture des algues est le pH du milieu de culture. Heureusement, c'est un paramètre très simple à contrôler grâce à la technologie existante [60].

De nos jours, il existe plusieurs contrôleurs de pH disponibles dans le commerce. La valeur du pH détermine la solubilité des minéraux et du dioxyde de carbone et influence ainsi sur le métabolisme des microalgues. Les algues présentent une dépendance claire aux pH du milieu et les espèces varient considérablement dans leur réponse au pH. Le cyanidium, par exemple, sa croissance optimale est à pH=2,0 [61] Alors que *A. platensis* croît bien au pH=9,5 [62].

Le pH des cultures d'algues peut être influencé par divers facteurs tels que la composition et le tampon du milieu, la quantité de CO_2 dissous, la température (qui contrôle la solubilité du CO_2) et l'activité métabolique des cellules algales. Il a été constaté que, dans la culture active de l'*A.platensis*, le pH augmentait continuellement à des valeurs allant jusqu'à 11, [63] Lorsqu'un contrôleur de pH automatisé n'est pas disponible, le maintien du pH peut être effectué en ajoutant des impulsions de CO_2 ou même dans un flux constant, en utilisant un petit rapport avec l'air. [58]

I.2.2.3.2.2.9. Effet de la salinité

Les cyanobactéries habitent des milieux qui varient drastiquement dans leurs niveaux salins. Au cours des quinze dernières années, de nombreuses études ont été publiées sur la réponse des cyanobactéries à différents milieux salins : le rôle spécifique des composés organiques comme osmorgulants, modification de la photosynthèse et de l'activité respiratoire, et des variations dans le schéma de synthèse des protéines. [22]

L'exposition des cultures de Spiruline à des concentrations élevées de NaCl se traduit par une immédiate cessation de la croissance. Après une période de décalage, un nouvel état stationnaire est établi.

L'adaptation est plus lente et inversement corrélée à la concentration accrue de NaCl dans le milieu. Une diminution du taux de croissance en raison du sel, le stress a également été démontrée dans d'autres cyanobactéries, comme Anacystis. [22]

La réponse de la Spiruline à la salinité en ce qui concerne le degré d'inhibition de la croissance, L'adaptabilité aux niveaux de sel et le taux d'adaptation varie largement selon la souche utilisée dans l'étude. [22]

Chapitre II

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériels

L'étude expérimentale a duré une période de 3 mois, elle a été menée au niveau du laboratoire de la faculté des sciences où on a effectué plusieurs cultures d'*A.platensis* sous différentes conditions, dans le but d'étudier l'influence des facteurs physique et chimique sur le processus globale de la croissance des cultures ainsi que la qualité de la biomasse obtenue.

II.1.1. Matériels biologiques

Au cours de ce travail nous avons utilisé une souche de spiruline « *Arthrospira platensis* ». Elle a été fournie par le Laboratoire des Biotechnologies Environnementales et de Génie des Procédés de l'ENP (Ecole National Polytechnique D'Alger). La souche d'origine algérienne a été cultivée dans un milieu de culture enrichi par les éléments minéraux nécessaires à la croissance.

II.1.2. Matériels non biologiques

Les différents matériels et appareillages de laboratoire utilisé sont présentés ci-dessous :

II.1.2.1. Appareillages

- Balance (KERN ALS 220-4N)
- Bain-marie (THERMOFIN)
- Centrifugeuse (EBA 21)
- Etuve (MEMMERT)
- Microscope optique (OPTIKA microscope)
- Réfrigérateur (FAR RT2016/1)
- Luxmètre (1308SI)
- Agitateur (XH-B)
- Spectrophotomètre (UV-2005 J.P selecta.sa)
- pH mètre (KY-PH-002)
- Programmateur journalier a curseurs, Programmateur électronique hebdomadaire, Pompe air aquarium, Accessoires de pompe à air, lampe torche (18w).

II.1.2.2. Verreries et petits matériels

- Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml)
- Béchers : 50ml, 600ml, 1000ml

- Réacteurs types coniques : 200ml, 600ml, 400 ml
- Dessiccateur en verre
- Tubes à hémolyse en plastique
- Boite de pétri en verre
- Lames, lamelles, papier filtre, spatule, pissette, entonnoir, thermomètre, Tuyau à air en silicone 4/6.

II.1.3. Conception de photobioréacteurs

Un nouveau concept de photobioréacteurs annulaire de forme conique est utilisé au cours de ce travail, il est construit en verre agencé d'une manière particulière : en couplant deux cônes de diamètres différents, l'un emboîté dans l'autre pour constituer ainsi un espace annulaire dans lequel circule la culture. (Figure II.1)

Cette nouvelle architecture de photobioréacteur nous permet de bénéficier de plusieurs avantages tels que la ponte d'inclinaison qui permet une pénétration perpendiculaire de la lumière ainsi que le système d'agitation qui est assuré par barbotage d'air et être contrôlable permet à ce niveau d'éviter l'effet de cisaillement et d'accumulation des superperoxyde .

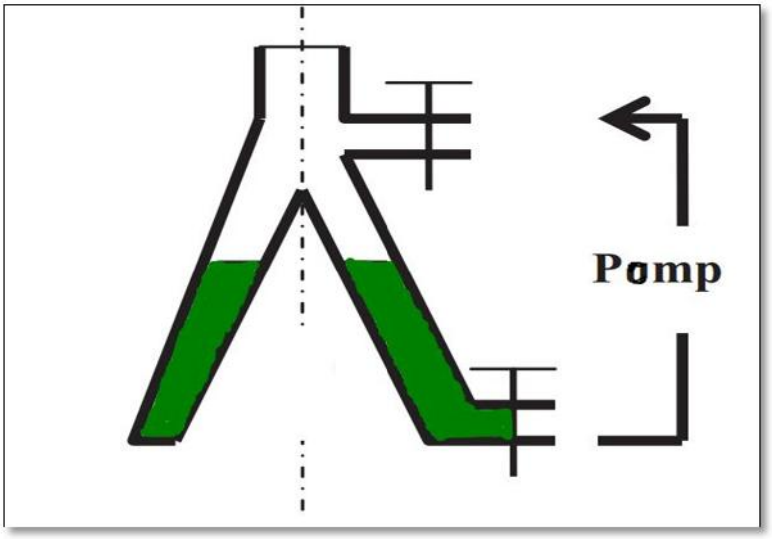


Figure II.1. Présente le montage du photobioréacteur lors d'une culture d'*Arthrospira platensis* en mode batch. [64]

Durant cette thèse on a travaillé avec trois photobioréacteurs qui ont la même architecture (décrit ci-dessus) mais différents dans leurs dimensions.

Les dimensions des photobioréacteurs utilisés sont illustrées dans le tableau. II.1 ci-dessous :

Tableau II.1. Les différents types de photobioréacteurs

Réacteurs	La hauteur de PBR (cm)	D : Le diamètre de PBR conique (cm)	r 1 : rayon de grandes bases (cm)	r 2 : rayon de petites bases (cm)	Epaisseur (cm)	Rapport S/V (surface spécifique) (m^{-1})
1	8	9	4	2	2.75	94
2	13	6	3	1.5	2.5	103
3	11.5	5.3	2.65	1.5	1.5	112

II.2. Méthodes

II.2.1. Examen microscopique

II.2.1.1. Examen à l'état frais

But : Observer les spirulines vivantes. Ceci permet de :

- Mettre en évidence leur mobilité.
- Faire une approche de leur morphologie.

Technique

A partir d'une culture pure de l'Arthrospira L'examen à l'état frais se pratique sur les cultures en milieu liquide. [65]

- Homogénéiser la culture liquide à prélever.
- Prélever une goutte de culture liquide (à la pipette pasteur ou à l'anse de platine) et la déposer sur une lame propre.
- Poser la lamelle, en partant d'une position inclinée à 45°.

Observations

- à l'objectif x40.
- diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste.
- forte intensité lumineuse. [65]

II.2.1.2. Examen après coloration du gram

La coloration de Gram (mise au point par Christian Gram) est une "coloration double", qui permet de différencier les bactéries [66] :

- D'après leur forme
- D'après leur affinité pour les colorants.

Technique

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau stérile, puis prélever à l'aide de l'anse de platine une parcelle de la culture. Mélanger afin d'obtenir une suspension homogène
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans trop le chauffer.
- Coloration : violet de gentiane phéniqué durant une minute. Toutes les bactéries prennent ce colorant et sont donc colorées en violet.
- rincer à l'eau du robinet
- Mordançage : recouvrir la lame de réactif de Lugol 1 minute (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration).
- Rincer à l'eau
- Epreuve (alcoolo résistance) : Plonger 3 ou 4 fois une demi-seconde dans un pot d'alcool puis rincé à l'eau du robinet immédiatement. Pendant cette étape, les lipides de la paroi des Gram- sont dissous et l'alcool peut donc pénétrer dans le corps bactérien et expulser le violet de gentiane. Les bactéries Gram - sont alcoolo-sensibles et sont donc décolorées. La paroi des Gram + ne laisse pas passer l'alcool et sont dites alcoolo-résistantes et restent colorées en violet.
- Contre coloration : Fuschine diluée au $1/20^{ème}$ ou de safranine pendant une minute. Toutes les bactéries prennent le colorant mais le violet masque la fuschine. Les « Gram positives » apparaissent donc violettes, les « Gram négatives », recolorées par la fuschine, apparaissent roses.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer à l'objectif x 100 à immersion, à pleine lumière. [66]

II.2.2. Culture de la spiruline

II.2.2.1. Conditions de culture

- Pour assimiler les conditions d'éclairage naturel, on a exposé la culture de la souche à la lumière blanche toute en en suivant un programme qui assure 12h de lumière et 12h d'obscurité et cela est effectué à l'aide d'un programmateur journalier à curseurs.

- L'agitation des cultures est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air avec un débit de 18 $l.h^{-1}.j^{-1}$. L'agitation du milieu de culture est nécessaire afin d'assurer une bonne répartition de l'éclairage parmi toutes les spirulines, mais aussi pour favoriser les échanges gazeux (Elimination de l'oxygène et absorption du gaz carbonique).
- L'air est injecté par le bas du réacteur. Le mélange et l'approvisionnement en air de la culture se fait à l'aide de cette arrivée. L'air ressort par le haut du réacteur.
- La température est maintenue à une valeur de 32°C ± 2 °C, tout en utilisant une prise programmable.
- Le pH initial devrait être assez élevé 9. le pH optimum d'une culture fluorissante varie de 9.5 à 11.3.

II.2.2.2. Milieu de culture

Les cultures sont réalisées sur un milieu synthétique décrit par Zarrouk en 1966. Ce milieu contient tous les éléments nutritifs susceptibles d'être consommés par Arthrospira platensis à des concentrations bien supérieurs aux besoins de l'algue. [67]

Le milieu de culture testé est ajusté à pH = 9 par addition de NaOH (4N). Il est conservé à l'abri de la lumière, après stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. [67]

Sa composition est donnée dans le tableau. II.2. Ci-dessous :

Tableau II.2. Composition chimique du milieu Zarrouk [67]

Composés	Concentration (g. L^{-1})
$NaHCO_3$	16.80
K_2HPO_4	0.50
$NaNO_3$	2.50
K_2SO_4	1.00
NaCl	1.00
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.20
$CaCl_2$	0.04
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01
EDTA	0.08

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

Tableau II.3. Composition chimique de la solution A_5 [67]

Oligo-éléments	Concentration (g. L^{-1})
Oligo-éléments H_3BO_4	2.86
$MnCl_2.4H_2O$	1.80
$ZnSO_4.7H_2O$	0.22
$CuSO_4.7H_2O$	0.08
MoO_3	0.01

Tableau II.4. Composition chimique de la solution B_6 [67]

Oligo-éléments	Concentration (g. L^{-1})
Oligo-éléments $K_2Cr_2(SO_4)_4.24H_2O$	960×10-4
$NiSO_4.7H_2O$	477×10-4
Ti $(SO_4)_3$	400×10-4
NH_4VO_3	229×10-4
Na_2WO_4	179×10-4
Co $(NO_3)_2.6H_2O$	44×10-4

II.2.2.3. Préparation de l'inoculum

Selon une étude faite par Lucia Helena Pelizer en 2001 une préculture de 3 jours est préconisée avant le démarrage du travail et cela est primordial pour deux raisons : permettre à la spiruline de s'adapter graduellement au nouveau milieu de culture pour s'assurer de l'unification de l'âge de toutes les souches présentes dans l'inoculum et par la suite remettre en forme la spiruline pour en avoir des souches dans la phase exponentielle prête à être cultivé.

- La première étape est la filtration, cette méthode consiste à filtrer le flacon qui contient la souche de l'Arthrospira au travers d'une membrane filtrante dont les pores (25 µm) ne laissent

pas passer les cyanobactéries. Ces membranes sont ensuite lavées par le milieu de culture neuf et réintroduisent dans un flacon stérile.

- Le flacon est maintenu 3 jours dans des conditions optimales de croissance et l'opération se déroule le soir afin de permettre à la spiruline de s'adapter progressivement à son nouveau milieu toute la nuit.

- le volume de la culture est augmenté davantage par ajout de 50 ml de milieu zarrouk quotidiennement durant 3 jours.

Ce flacon constituera l'inoculum par lequel on ensemence les différents photobioréacteurs.(voir annexe II)

II.2.2.4. Démarrage de la culture

A partir de l'inoculum de départ, quinze cultures d'*A.platensis* ont été menés en mode batch, afin d'étudier l'influence de trois paramètres de culture sur la croissance de l'algue qui sont l'intensité lumineuse appliquée sur le réacteur, rapport surface /volume, ce qui correspond au rapport entre la surface éclairée et le volume de culture, ainsi que la concentration initiale de la culture.

Tous les paramètres étudiés sont détaillés dans le tableau II.5 ci-dessous :

Tableau II.5. Plan d'expériences

Expériences	Concentration initiale de l'inoculum (g/l)	Intensité lumineuse (lux)	Rapport S/V (surface spécifique) (m^{-1})
1	0.50	2750	112
2	0.5	500	103
3	0.75	5000	94
4	0.75	500	112
5	0.5	2750	103
6	0.75	2750	103
7	0.25	5000	112
8	0.75	500	94
9	0.5	5000	103
10	0.25	500	94
11	0.25	5000	94
12	075	5000	112
13	0.25	500	112
14	0.75	15000	112
15	0.5	15000	112

II.2.2.5. Suivi de la culture

La couleur de la culture de spiruline est un indicateur sur l'état des cellules. Dans les meilleurs conditions de croissance, la spiruline flotte à la surface et sa couleur est bleu vert foncé, et dans le pire des cas les filaments d'algues décantent au fond et leurs couleurs sont jaunâtres, ce qui indique que la culture est stressée**.**

II.2.3. Contrôle de la contamination de la souche

Il est vrai que la spiruline ne se contamine pas facilement par d'autres microorganismes, du fait de son pH élevé (pH=9) qui inhibe la croissance de la plupart des contaminants. Cependant il est important de prendre des précautions lors des manipulations, car il peut y avoir des micro-organismes qui tolèrent ce pH élevé telle que les streptocoques, les chlorelles…etc. c'est pourquoi on fait régulièrement des observations au microscope optique (agrandissement X 40), on stérilise la verrerie utilisé pour manipuler la souche, et aussi par des filtrations sur des filtres spéciales pour spiruline afin de purifier notre souche.

Dans le pire des cas, la filtration répétée reste la seule moyenne de séparer les contaminants de spiruline.

II.2.4. Méthode de mesure de la croissance

II.2.4.1. Détermination du poids sec

- Les échantillons contenant 25-50 ml de suspension d'algues sont filtré à travers un Filtre Whatman GF / C 47 mm (diamètre) qui ont été séché dans un étuve pendant 2 h à 105 ° C et pesé avant la filtration.
- Pendant que l'échantillon est filtré, il est lavé avec 20 ml d'eau acidifiée (pH= 4) afin d'éliminer et laver les algues à partir de sels insolubles.
- Des dilutions ont été préparées dans la gamme 25-100 %, puis à partir de chaque dilution on mesure la densité optique correspondante.
- Les filtres sont placés dans des boîtes de Pétri en verre dans l'étuve dans les conditions ci-dessus.
- Après avoir refroidi les filtres dans un dessiccateur (20 min), ils sont à nouveau pesés. [22]

II.2.4.2. Mesure de la concentration cellulaire

Un échantillon de 3ml a été prélevé chaque jour à partir d'une culture d'*Arthrospira sp* (pour chaque réacteur à tester). La croissance de la souche est suivie par des mesures de la densité optique.

La densité optique (DO) de la suspension microalgale a été mesurée à λ_{max} = 618nm tout en utilisant un spectrophotomètre (UV-2005 J.P selecta.sa). Les DO obtenus ont été converties en concentrations de cellule sèche en utilisant le coefficient de corrélation prédéterminé lors de la détermination du poids sec.

II.2.5. Calcul de paramètres cinétiques

- Le taux de croissance spécifique maximal (μ max) est la vitesse de croissance spécifique pendant la phase exponentielle de croissance. La phase exponentielle de croissance a été déterminée en dessinant la courbe logarithmique de la croissance de la biomasse en fonction du temps afin d'avoir la durée de chaque phase. Puis μ_{max} a été calculé à partir de l'équation suivante [2] :

$$\mu_{max} = \frac{ln(x_2) - ln(x_1)}{t_2 - t_1} \quad \text{.....(II.1)}$$

Tel que x_2 et x_1 sont la concentration en biomasse mesuré au temps t_1 et t_2 respectivement (avec t_1, t_2 durées en fin et en début de phase exponentielle)

-La productivité d'un système de culture est une grandeur largement utilisée pour caractériser ses performances et comparer différents systèmes entre eux. [2]

La productivité en biomasse (P_x) est calculée comme suivent :

$$P_x = \frac{X_{max} - X_i}{t_{max}} \quad \text{.....(II.2)}$$

Là où X_{max} et X_i sont des concentrations maximales et initiales en biomasse respectivement et t_{max} le temps correspondant à X_{max}.

II.2.6. Evaluation de la composition biochimique de la spiruline

L'étude de la composition en pigments photosynthétiques et en protéines permet d'estimer la qualité de la biomasse récoltée à chaque essai réalisé durant ce travail.

II.2.6.1. Dosage du pigment bleu : la phycocyanine

Le mode opératoire pour l'extraction et la détermination de la quantité du phycocyanine est le suivant :

- Centrifuger 200ml de chaque culture différente à 6000 tpm pendant 10 minutes.
- Ajouter 10 ml d'une solution de tampon phosphate à pH=7.
- Congeler à -20 °C et décongeler à 4 °C de manière répétitive pendant 4 heures.
- Centrifuger les différents extraits obtenus à 6000 tpm pendant 10minutes.

L'estimation des taux de pureté de la phycocyanine extraite de chaque culture en calculant chaque fois le rapport : $\frac{A_{620}}{A_{280}}$par spectrophotomètre. [68]

Calculer la concentration totale de la phycocyanine (PC) présente dans chaque surnageant selon l'équation suivante [68] :

$$PC = \frac{DO_{615} - 0.0474 DO_{652}}{5.34} \quad \text{..... (II.3)}$$

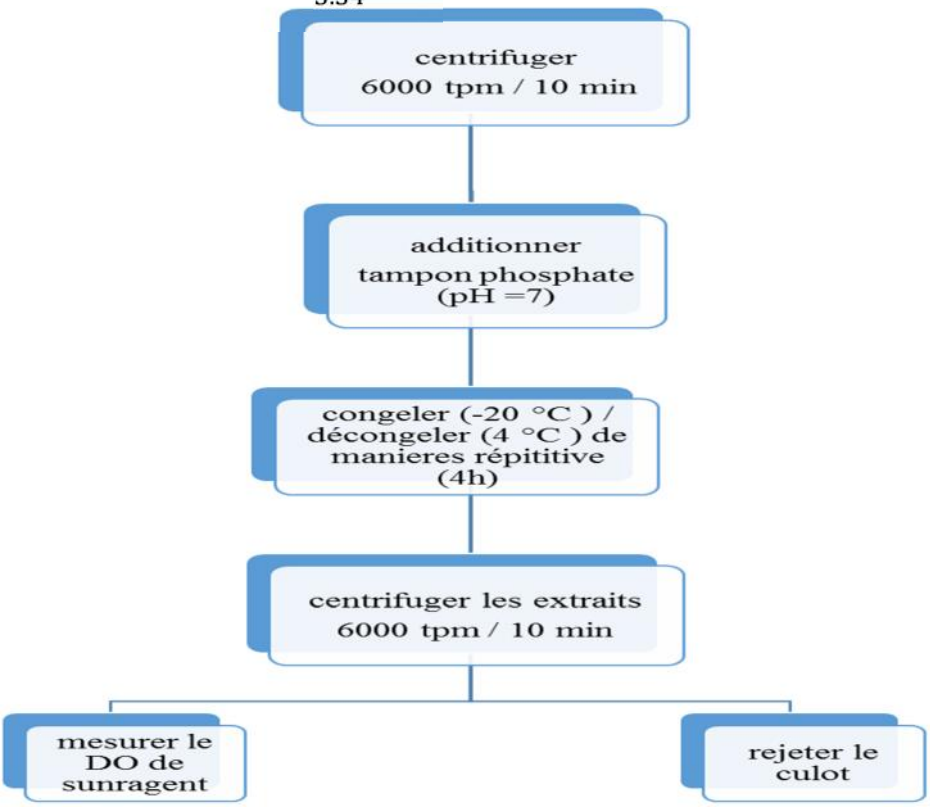


Figure II.2. Organigramme résume les diffferentes étapes d'extraction et de determination de la teneur en pycocyanine [68]

II.2.6.2. Détermination de la chlorophylle a

L'échantillon de 5 ml de suspension d'algues est centrifugé pendant 5 min à 3500 tpm. Le culot est conservée (le surnageant est rejeté), est remis en suspension dans 5 ml de méthanol (absolu) et broyé dans un homogénéisateur. [22]

Les échantillons sont incubés dans un bain-marie, à 70 ° C pendant 2 min. Ensuite, l'échantillon est centrifugé à nouveau pendant 5min à 3500 tpm, et le surnageant transparent est utilisé pour la mesure.

La densité optique de ce dernier est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 665, 645 et 630 nm. La quantité de chlorophylle est calculée selon l'équation suivante [22] :

$$[Cha] = 11.6\, DO_{665} - 1.31 DO_{645} - 0.14 DO_{630} \quad \text{(II.4)}$$

Cha c'est la concentration de chlorophylle a en mg/L.

II.2.6.3. Détermination des protéines

Un échantillon de 1-5 ml de culture est centrifugé ou filtré. Le surnageant est mis au rebut et la chlorophylle est éliminée par extraction au méthanol comme décrit précédemment.

Le culot est séché en soufflant un courant doux d'air. Au culot, on ajoute 2 ml de NaOH (0,5 N), on mélange bien et on incube pendant 20 min à 100 ° C (tubes de couverture à éviter l'évaporation). Centrifuger et maintenir le surnageant, ajouter un autre volume de NaOH 0,5 N chaud (70 ° C), bien mélanger, centrifuger et combiner le surnageant. [22]

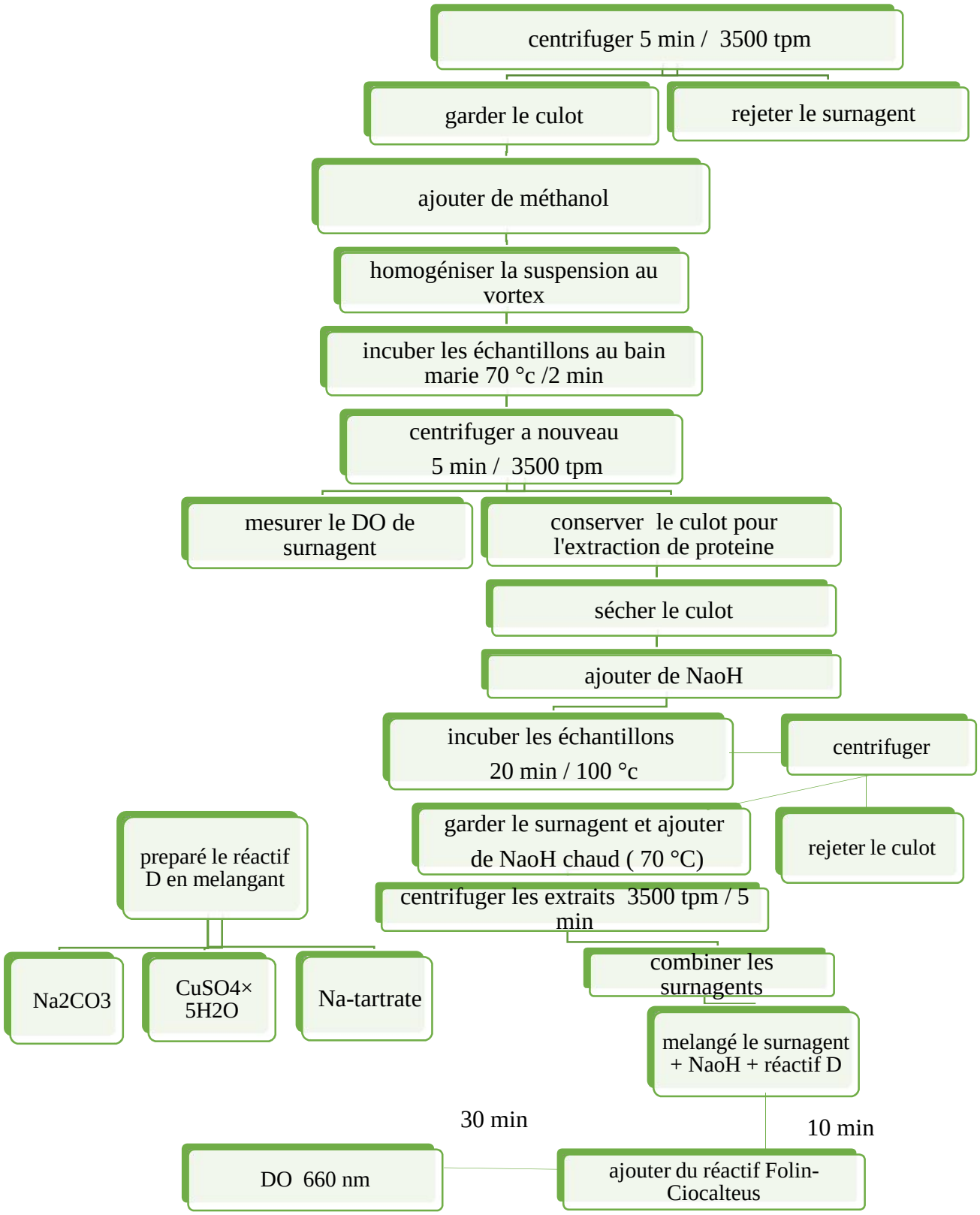
Pour la réaction de couleur, utiliser 0,1 à 0,5 ml du surnageant et ajouter du NaOH 0,5 N à un volume final de 1 ml.

Utilisez la HSA comme norme dans la gamme de 50 à 200 mg. Préparer les réactifs pour la réaction de couleur

Tableau.II.6. Les différents réactifs utilisés lors de l'extraction de protéines [22]

Réactif A	Réactif B	Réactif C	Réactif D
2% Na_2CO_3	0,5% $CuSO_4 \times 5H_2O$	1% de Na-tartrate	48 ml de R. (A) + 1 ml de R. (B) + 1 ml de R. (C)

Mélanger ensemble, puis Ajouter 4 ml de R. (D) à 1m de l'échantillon à doser, bien mélanger, et Attendre 10 min. Ensuite, ajouter 1 ml du réactif Folin-Ciocalteus dilué avec de l'eau. Bien mélanger et attendre 30 min. Lisez l'absorbance à 660 nm. [22]



FigureII.3. Organigramme résume les differentes étapes d'extraction et de determination de la teneur en chlorophylle a et en proteines [22]

II.2.7. Analyse statistique

La méthodologie de la surface de réponse (RSM) a été utilisée pour étudier l'effet des trois facteurs étudié sur la productivité en biomasse et le taux de croissance de l'*A.platensis* à travers une culture en batch.

Les variables indépendantes sélectionnée pour l'étude était $\mathbf{x_1}$ (intensité lumineuse 500-5000), $\mathbf{x_2}$ (Concentration de l'inoculum 0.25-0.75), $\mathbf{x_3}$ (Rapport S/V 94-112).

La fonction de réponse (y), c'est-à-dire la productivité de la biomasse et le taux de croissance a été approchée par un polynôme de deuxième degré.

$$\mathbf{y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_1x_2 + b_5x_1x_3 + b_6x_2x_3 + b_7x_1^2 - b_8x_2^2 + b_9x_3^2.} \quad \textbf{(II.5)}$$

Où Y est la variable de réponse, b les coefficients de régression et $\mathbf{x_1}$, $\mathbf{x_2}$ et $\mathbf{x_3}$ les variables indépendantes. Les résultats présentés dans cette étude ont été résumés à partir de treize expériences indépendantes et cela par l'intermédiaire d'un logiciel statistique d'analyse de données JMP .version 11.

Les graphiques de surface de réponse ont été obtenus à partir de l'équation (II.5).

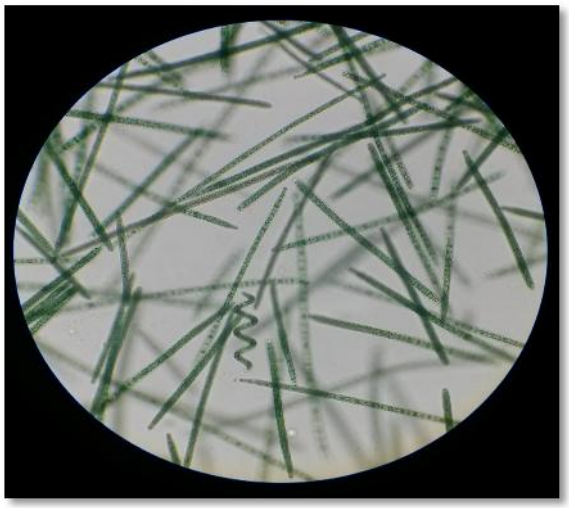
Chapitre III

Résultats et discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

III.3.1. Spiruline vue au microscope

L'examen direct au microscope a été effectué sur d'un échantillon issue d'une culture jeune de spiruline.



FigureIII.1 Observation au microscope optique de l'état frais de la Spiruline (Grossissement × 40)



Figure III.2 Observation de la spiruline au microscope après coloration du gram (Grossissement × 100)

D'après les figures ci-dessus :

La figure III.1 montre que la spiruline se présente sous forme de filaments bleu vert, composés de cellules cylindriques disposées en trichomes hélicoïdaux. Ces filaments tournent autour de leurs axes. Le sens d'enroulement spiralé est le plus souvent le sens inverse des aiguilles d'une montre si on regarde par-dessus la spirale en descendant.

La figure III.2 illustre une cyanobactérie filamenteuse à Gram négative mise en évidence par une technique de coloration appelée coloration de Gram. Les cyanobactéries à Gram négatif apparaissent alors roses foncés au microscope. Ils apparaissent comme une masse de filaments entrelacés, ou Trichomes, chacun de longueur variable.

III.3.2. Mesure de la biomasse

Le courbe étalon réalisé pour suivre la croissance de la spiruline se fait par une simple lecture de la densité optique (DO). On prend en compte $\lambda_{max} = 618\text{nm}$. Les résultats sont illustrés dans la figure III.3. Sous forme d'une fonction linéaire (DO = f (PS))

La relation expérimentale est exprimée par l'équation suivante :

DO = 1,1485 PS+ 0,0820. ……..……..……..(III.9)

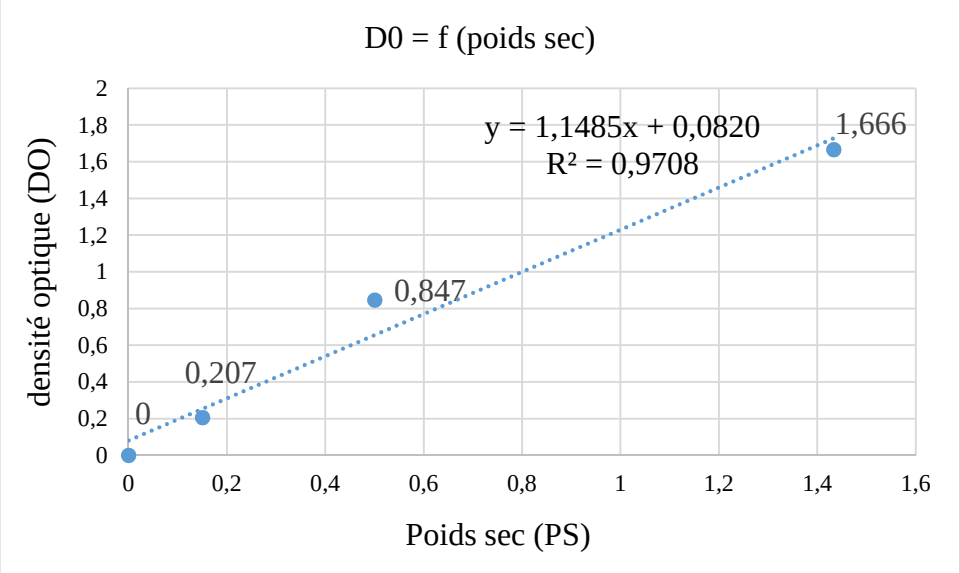


Figure III.3 : Courbe d'étalonnage mettent en valeur la DO en fonction du poids sec

III.3.3. Cinétique de croissance de la spiruline

La souche de spiruline étudiée a été cultivée dans un milieu non renouvelé ″système clos″ dans les conditions décrites précédemment. Durant notre étude nous avons suivi la croissance de la souche pour une période allant du 1ére mars au 16 mai 2017.

Les cinétiques de croissance ont été suivies sur trois PBR à différentes épaisseurs. Elles sont exprimées en poids sec en fonction du temps (voir figure III.4-6), à partir desquelles on détermine les paramètres cinétiques de croissance tel que la productivité volumique et le taux de croissance spécifique maximal (μ_{max}).

En effet, l'évolution de la quantité de biomasse obéit à la loi classique de la croissance des microorganismes en culture discontinue ″batch″ qui est une étape primordiale dans cette étude, définie par les différentes phases.

Pour les trois PBR, les cinétiques de croissance obtenues présentent les mêmes évolutions composées d'une phase de latence, une phase exponentielle de croissance et une phase stationnaire. Cependant la durée de chaque phase différente d'une expérience à une autre en fonction des conditions de culture.

On distingue clairement une courte phase de latence soit 3 à 4 jours maximum. Elle est due au fait que les microalgues passent lors de leur inoculation d'un milieu concentré (préculture) à un milieu dilué (photobioréacteur).

A la phase de latence succède la phase d'accélération où l'on assiste à des divisions successives pendant lesquelles le taux de croissance spécifique augmente pour arriver au maximum au cours de la phase exponentielle de croissance, cette dernière dure 7 à 14 jours selon les conditions opératoires pratiquées au bout de chaque expérience.

Puis on remarque qu'il y a une stabilité de la biomasse ce qui correspond à la phase stationnaire (2 - 3 jours) pendant laquelle la population de spiruline atteint sa valeur maximale. Elle représente un équilibre entre le gain des cellules qui se diviser et celles qui commencent à se lysées à cause des conditions difficiles du milieu.

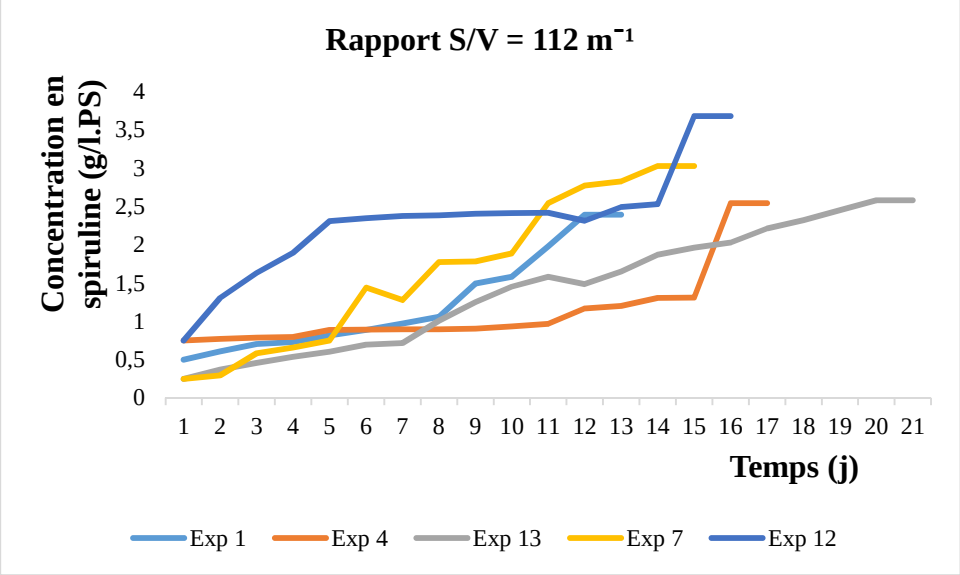


Figure III.4 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport S/V =112 m^{-1}

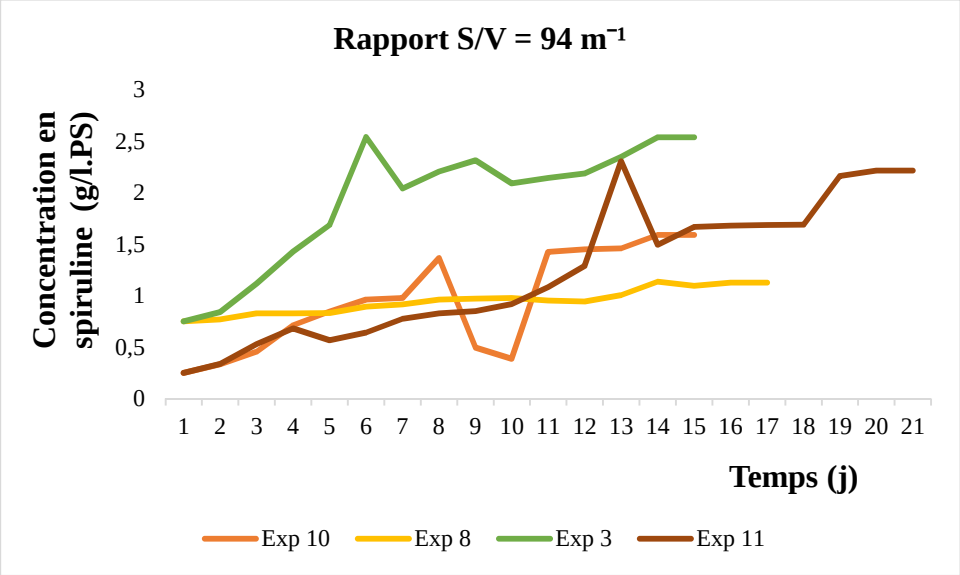


Figure III.5 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport S/V =94 m^{-1}

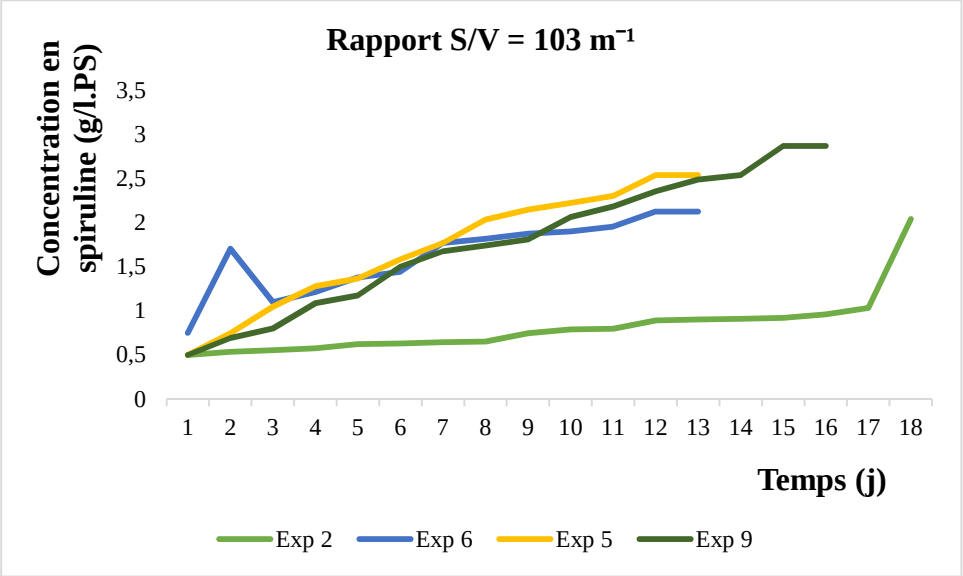


Figure III.6 Trace de la cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de Rapport S/V =103 m^{-1}

À partir de ces expériences réalisées nous pouvons affirmer que les conditions imposées sur les cultures ont un effet direct sur la croissance des microalgues et que les conditions optimales sont ceux qui résultent d'une biomasse élevé en une durée assez courte.

III.3. l'influence des facteurs physico-chimiques

Dans cette étude expérimentale on a réalisé 13 expériences en prenant en compte des paramètres fixes pour l'ensemble de ces expériences. Ces paramètres sont décrite comme optimale pour la croissance de l'*A.platensis*. [16][11][67][22]

- Le pHi : 9
- La température : 32 ±2 °C
- La salinité du milieu : 22 g/l
- L'agitation avec un débit de 18 $l.h^{-1}.J^{-1}$

Et des paramètres variables on site :

- La concentration de l'inoculum de départ
- Le rapport S/V d'un photobioréacteur
- L'intensité lumineuse

D'où l'intérêt de voir leurs influence sur la croissance de la spiruline en déterminant la productivité en biomasse et la vitesse de croissance spécifique maximal.

Les résultats on était résumées dans un tableau puis schématisés en graphe.

Tableau III.1 Planification d'expériences

Expériences	Concentration de l'inoculum (g/l)	Intensité lumineuse (lux)	Rapport S/V (m^{-1})	Productivité volumique Px ($g.l^{-1}.j^{-1}$)	Vitesse de croissance µmax (j^{-1})
1	0.50	2750	112	0.158	0.127
2	0.5	500	103	0.086	0.039
3	0.75	5000	94	0.127	0.073
4	0.75	500	112	0.112	0.035
5	0.5	2750	103	0.146	0.074
6	0.75	2750	103	0.106	0.059
7	0.25	5000	112	0.198	0.147
8	0.75	500	94	0.023	0.024
9	0.5	5000	103	0.148	0.077
10	0.25	500	94	0.096	0.060
11	0.25	5000	94	0.103	0.089
12	0.75	5000	112	0.195	0.026
13	0.25	500	112	0.117	0.094

III.3.3.1. Effet de la concentration de l'inoculum de départ x_0 sur la croissance de spiruline

Dans cette étape on a travaillé sur une gamme de concentrations x_0 allant de 0.25 à 0.75 (voir figure III.7). Ces concentrations permettent de bien démarrer une culture et de suivre l'évolution de la croissance vis-à-vis d'une productivité et une vitesse de croissance optimale.

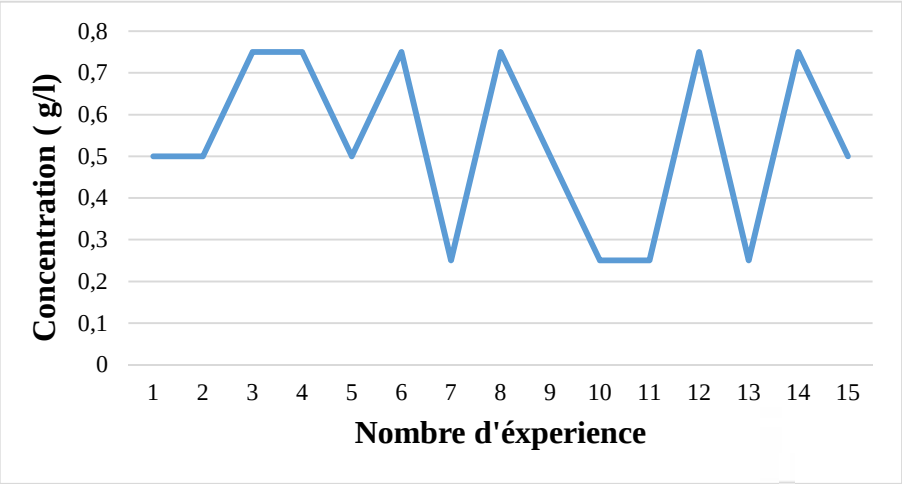


Figure III.7 Variation de la concentration initiale de l'inoculum x_0 on fonction des différentes expériences.

Dans le but d'étudier l'influence de la concentration initiale sur la croissance de la spiruline on compare les P_X et μ_{max} obtenue des expériences qui présentent les mêmes intensités lumineuses et les mêmes rapports S/V (Figure III.8).

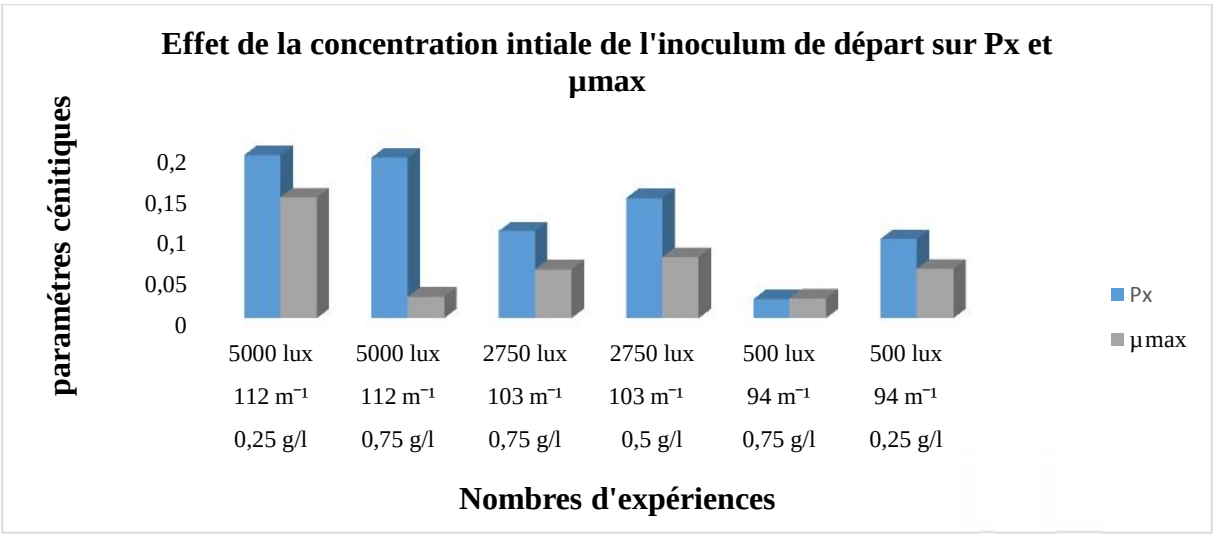


Figure III.8 Effet de la concentration de l'inoculum de départ sur P_X etμ_{max}

D'après la figure ci-dessus, on constate des valeurs maximales obtenues pour P_X et µmax sont égales à 0.198 $g.l^{-1}j^{-1}$ et 0.147 j^{-1} respectivement. Ces résultats ont été obtenue pour le PBR de 112 m^{-1} inoculé avec une concentration de départ faible 0.25 g/l sous une intensité lumineuse élevée.

De plus on constate que les productivités des cultures les plus denses sont inférieures à ceux des cultures les plus dilués ceux-là peut être expliqué par une distribution non homogène de la lumière dans des PBR avec des densités élevé. En effet les cellules de la surface sont directement exposées à la lumière par conséquent elles absorbent la plupart des rayonnements disponibles, par contre les cellules de la zone sombre du photobioréacteur ne reçoivent qu'une petite partie du rayonnement, ce qui limite leur croissance. [70]

III.3.3.2. Effet de l'intensité lumineuse sur la croissance de spiruline

Sans aucun doute, la lumière est le facteur le plus important qui affecte les organismes photosynthétiques. Néanmoins, la Spiruline, comme beaucoup d'autres algues cultivées, dépend de la lumière comme principale source d'énergie.

La première étude détaillée sur la réponse de *Spirulina maxima* à la lumière a été faite par Zarrouk en 1966. Dans son expérience, l'influence des éclairements est étudiée avec celle des plus faibles éclairements, de 1500 à 5000 lux ainsi que des plus forts éclairements, de 12000 à 60000 lux, il a atteint à une conclusion que la croissance de *S. maxima* est saturée à des niveaux de 25-30 Klux.

Les valeurs de l'intensité lumineuse choisis varié au cours de différentes expériences de 500 à 5000 lux. (Figure III.9)

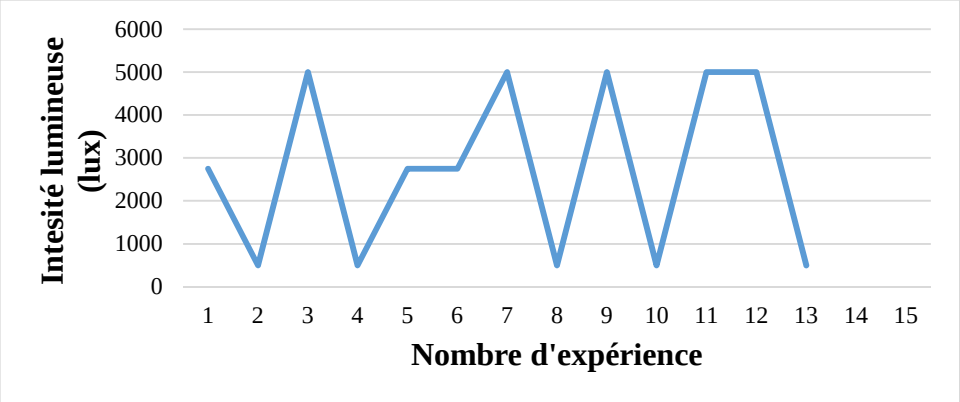


Figure III.9 Variation de l'intensité lumineuse en fonction des différentes expériences.

L'influence de la lumière est étudiée avec des cultures de concentrations de l'inoculum ainsi que de rapport S/V fixe.

Des expériences ont été réalisées afin d'atteindre l'intensité lumineuse qui permet d'obtenir une meilleure productivité de biomasse et une vitesse de croissance maximale.

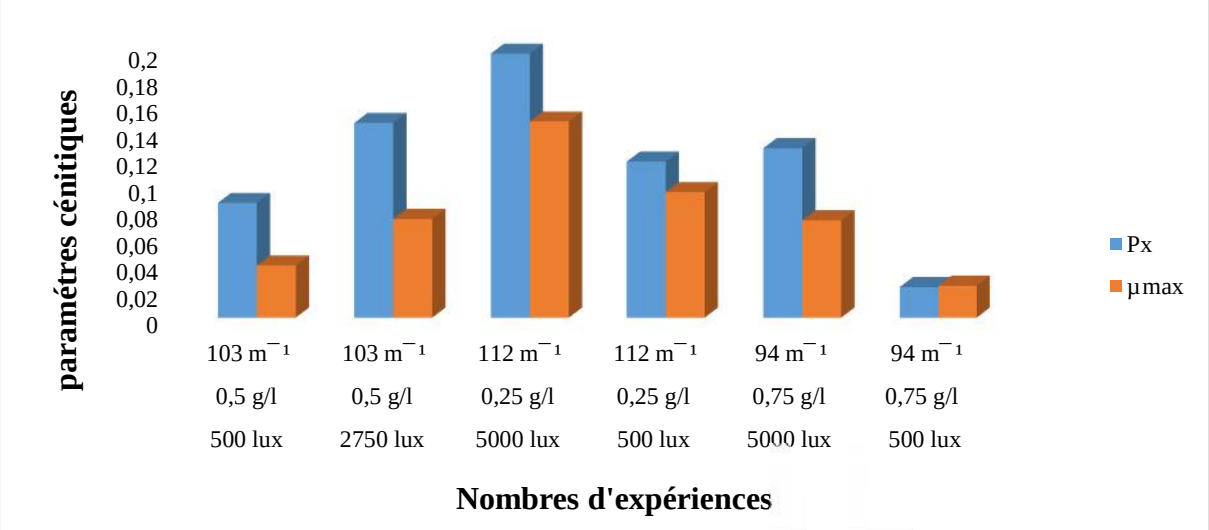


Figure III.10. Effet de la lumière sur P_X etμ_{max}.

L'histogramme ci-dessus a affiché un taux de croissance maximale à 0.147 j^{-1} est une productivité optimale à 0.198 $g.l^{-1}.j^{-1}$ au moment où la souche est exposée à un éclairage égal à 5000 lux et cela est dû peut-être à une bonne répartition de la lumière au sein de PBR (la lumière est disponible à toutes les microalgues qui se trouvent au sein du réacteur) et une atténuation minimisée.

Tandis que si l'intensité lumineuse diminue on aura une diminution de la zone éclairée au sein du réacteur d'où la faible vitesse et productivité en biomasse. [22]

On remarque dans cette partie que les gammes de l'intensité lumineuse choisie n'ont provoquée aucun cas de photolyse.

III.3.3.3. Effet du rapport surface/volume d'un photobioréacteur sur la croissance de spiruline

Le choix de l'épaisseur du PBR représente un défi majeur pour une forme optimale du photobioréacteur puisqu'il affecte, son absorption lumineuse ainsi que la concentration de biomasse à laquelle la culture peut être utilisée et par conséquent la productivité en biomasse et la vitesse de croissance. (Figure III.11)

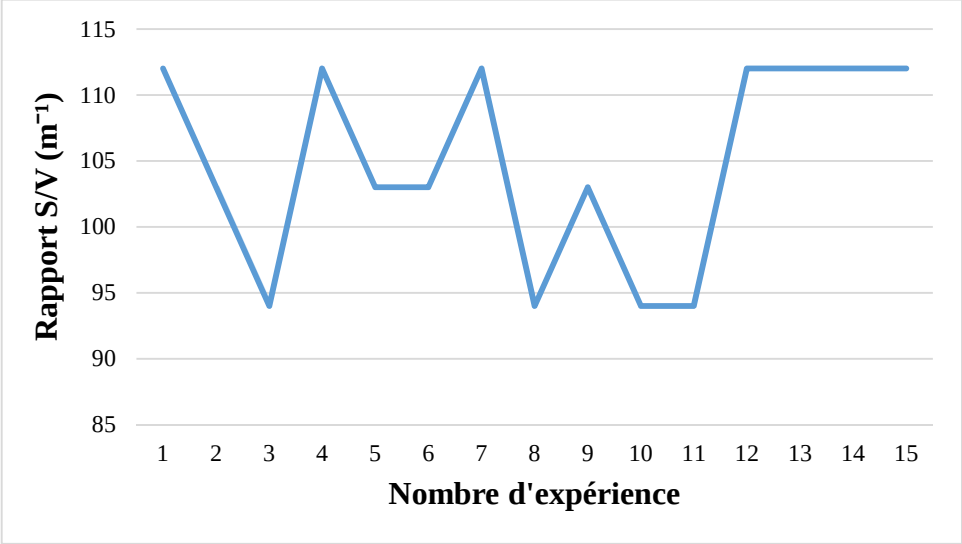


Figure III.11. Variation du rapport S/V en fonction des différentes expériences.

Afin d'attirer l'étude sur l'influence du rapport S/V sur la croissance de la spiruline il faut fixer au moins deux paramètres de croissance, la concentration initiale et l'intensité lumineuse respectivement. (Figure III.12)

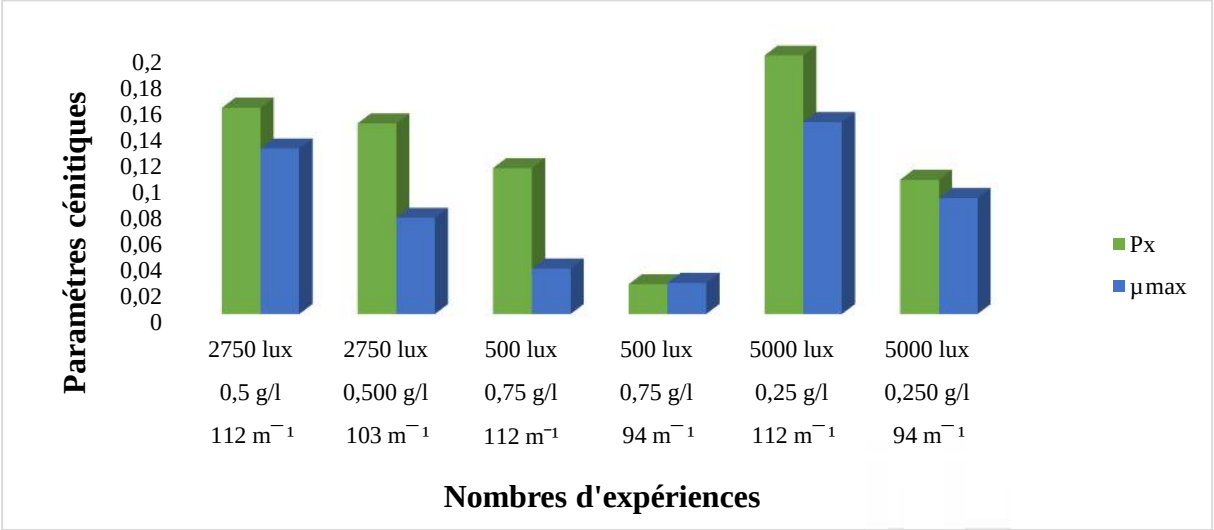


Figure III.12. Effet du rapport S/V d'un PBR sur la P_X etμ_{max}.

D'après la figure on constate que la productivité obtenue avec le PBR 112m^{-1} est 3 fois plus élevée que celle du PBR 94m^{-1}. Ces résultats sont en adéquation avec les résultats décrits par Amos Richmond (2004). Ce dernier affirme que plus le (S/V) est élevé, plus la concentration de cellules au niveau du réacteur est faible**,** plus une meilleure productivité en biomasse est obtenue.

En plus l'écart entre la productivité du $112m^{-1}$et 94 m^{-1}est plus important que celui entre $112m^{-1}$et $103m^{-1}$, cela est due au fait que le PBR $112m^{-1}$est beaucoup plus mince que le PBR 94 m^{-1}par rapport au $103m^{-1}$ce qui affirme qu'il y a une corrélation négative entre l'épaisseur du PBR et la productivité du réacteur.

On peut interpréter donc ces résultats par le fait que le rapport S/V optimale ($112m^{-1}$) est celui qui nous permet de bénéficier d'un apport maximal de lumière dans l'ensemble du photobioréacteur avec une meilleure homogénéisation de la lumière tout en évitant les phénomènes d'auto-ombrage. [75]

Un photobioréacteur devrait donc avoir un large rapport surface /volume. Cela peut être atteint avec des faibles épaisseurs.

III.3.4. Optimisation des paramètres de croissance

La productivité en biomasse et la vitesse de croissance spécifique ont été calculées à la fin de chaque expérience. Ainsi les résultats sont résumés dans le graph ci-après (Figure III.13)

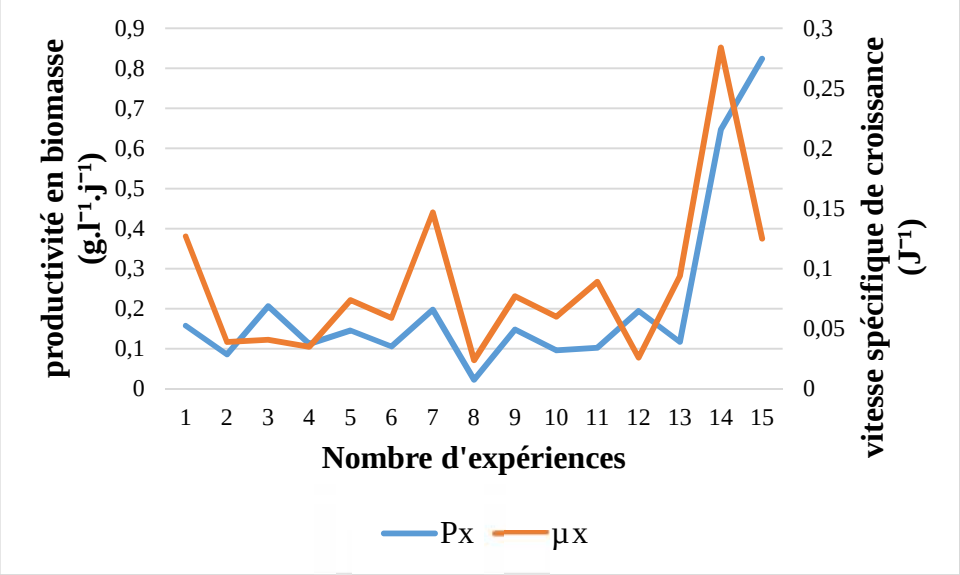


Figure III.13. Fluctuation de P_X ainsi que μ_{max} en fonction du nombre d'expériences

La productivité et la vitesse de croissance présente des variations importantes durant les expériences réalisées, ce qui est tout à fait logique. Ces importantes différences sont liées aux conditions de culture imposées.

On a noté qu'il y a une corrélation claire entre la productivité et le taux de croissance, en effet des faibles valeurs caractérisent les treizes premières expériences la meilleure étant 0,198 $gj^{-1}l^{-1}$et 0,147 j^{-1} vue en septième expérience.

On a constaté également que l'augmentation de l'intensité lumineuse a entraîné une amélioration du taux de croissance suggérant que le point de saturation de la photosynthèse n'a pas encore été atteint ce qui nous a mené a supposé que les valeurs de l'intensité lumineuse choisis été très faibles (elle tombe dans la zone de limitation) alors on a jugé important d'augmenté cette valeur à 15000lux (lors des deux dernières expériences).

Les résultats été très intéressantes la productivité obtenue été 4 fois plus élevé à celle de la 7^{eme} expérience.

Mais on a pu remarquer que les algues ne supportent pas trop longtemps de tels éclairements. Effectivement vers le troisième jour on a observé un jaunissement puis une destruction des filaments d'algues et cela est aurez due au début d'épuisement de milieu de culture qui commence à s'appauvrir, d'où une régression de la concentration de la biomasse (poids sec) jusqu'à la lyse totale de la souche (photolyse).

De ce qui précède on peut conclure que les conditions optimales pour démarrer une culture sont une intensité lumineuse assez élevé de 5000 à 15000 lux, une concentration de l'inoculum assez faible 0.25 à 0.5g/l et un large rapport S/V d'un photobioréacteur égale à 112m^{-1} mais tous cela doit être assez cohérent.

III.3.5. Les effets d'interaction

Les résultats obtenus sur l'effet des trois variables indépendantes (intensité lumineuse, concentration de l'inoculum, rapport S/V) sur la productivité en biomasse d'*Arthrospira platensis* sont visualisés à l'aide de la surface de réponse (figure III.14-19).

Des bons coefficients de corrélation (r^2 =0,98, P=0,0005) (r^2 =0,83, P=0,0818) ont indiqué l'aptitude des deux polynômes de deuxième ordre à prédire la productivité en biomasse et le taux de croissance simultanément. (Voir annexe III)

L'équation polynomiale pour la productivité de la biomasse y_1 et le taux de croissance y_2 dans le niveau réel des variables est représentée par :

$$y_1 = 0.56838 - 0.000021\,x_1 - 0.2337x_2 - 0.010736x_3 + 0.00002\,x_1x_2 + 0.0000003\,x_1x_3 + 0.00227\,x_2x_3 - 0.000000001\,x_1^2 - 0.094181\,x_2^2 + 0.00006\,x_3^2 \quad \text{(III.2)}$$

$$y_2 = 2.63634 + 0.000069\,x_1 + 0.77647\,x_2 - 0.05566\,x_3 - 0.0000093\,x_1x_2 - 0.0000002\,x_1x_3 - 0.0071\,x_2x_3 - 0.000000006\,x_1^2 - 0.1301\,x_2^2 + 0.00029\,x_3^2 \quad \text{(III.3)}$$

III.3.5.1. Interaction entre l'intensité lumineuse et l'inoculum de départ

L'efficacité d'un photobioréacteur à produire de la biomasse algale est donc en partie gouvernée par la quantité de lumière qui pénètre dans la culture. L'une des façons d'améliorer cette pénétration est d'ajuster la concentration cellulaire dans le réacteur.

Différents effets d'interaction notamment, l'intensité de la lumière et la concentration initiale de l'inoculum, l'un ayant un effet positif tandis que le l'autre possédant un effet négatif vis-à-vis la productivité ceci est illustré dans la représentation ci-dessous. (Figure III.14,15)

La signification de ces deux paramètres en termes de productivité en biomasse signifie que l'effet de la concentration initial dépend de niveau de l'intensité de la lumière fourni.

En effet, on constate qu'une concentration faible de l'inoculum de départ augmente la pénétration de la lumière et entraîne une augmentation de la productivité. Alors qu'une trop faible densité de culture associée à un flux de photons supérieurs à celles requises pour saturer la photosynthèse peut augmenter les risques de photoinhibition et conduira à une perte de capacité photosynthétique. [22]

D'après la figure III.36. On constate pour une faible intensité lumineuse la productivité d'*A. Platensis* a diminué de façon significative avec une augmentation de la concentration initiale de l'inoculum. On peut interpréter ces résultats par l'augmentation des phénomènes de photo-ombrage, une forte densité de culture empêche la lumière d'atteindre la totalité des cellules tout on diminuant la pénétration de la lumière dans la culture et donc en augmentant la zone obscure dans le réacteur. En plus les cellules dans la zone sombre du photobioréacteur (PBR) ne reçoivent qu'une petite partie du rayonnement, ce qui limite leur croissance. [70]

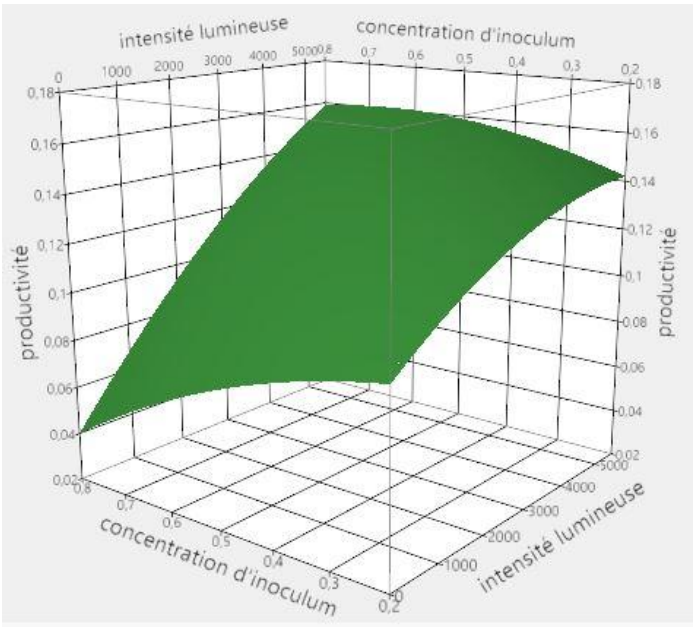


Figure III.14. Productivité en biomasse en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et de l'intensité lumineuse.

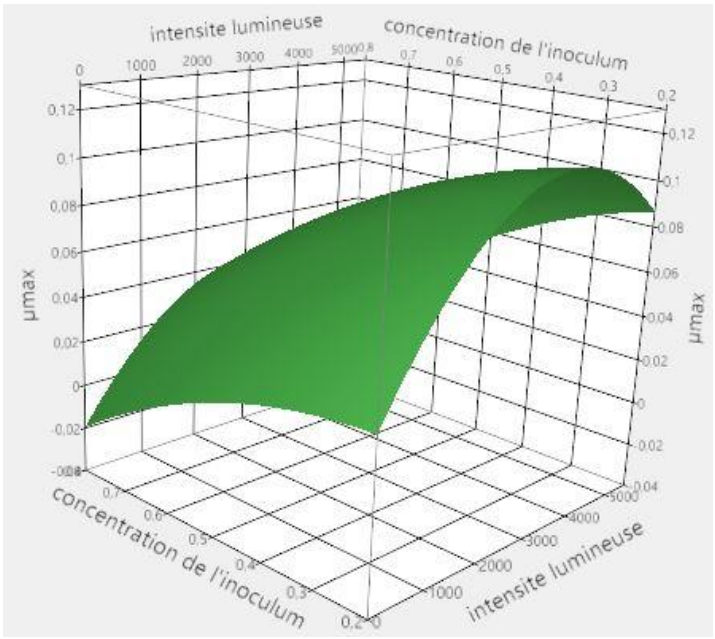


Figure III.15. Taux de croissance en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et de l'intensité lumineuse

III.3.5.2. Interaction entre l'intensité lumineuse et le rapport S/V

Les interrelations entre la lumière incidente et La surface spécifique des réacteurs coniques sur la productivité ont été élucidés dans la figure III.16,17.

L'effet d'interaction entre l'intensité lumineuse et le rapport S/V d'un photobioréacteur est positif, ce qui signifie que l'effet du rapport S/V sur la productivité en biomasse est contrôlé par le niveau d'intensité lumineuse muni.

D'après les résultats on remarque que pour des concentrations en biomasse faibles, l'atténuation de l'intensité lumineuse dans le photobioréacteur est plus prononcée dans les PBR d'épaisseur élevé, effectivement la plus basse productivité est obtenue avec un photobioréacteur de rapport S/V faible exposée à une faible intensité lumineuse cela s'explique par l'utilisation moins efficace de l'intensité lumineuse.

En effet l'utilisation efficace de la lumière par les cyanobactéries dépend de la photosynthèse or lors de la culture en réacteur épais (rapport S/V faible) on note l'apparition d'une zone éclairée et une zone sombre. Les cellules qui se trouve dans la zone sombre reçoivent moins la lumière et nécessite un temps de déplacement élevée entre la zone éclairé et la zone sombre (appelée zones Light-Dark) du réacteur, cette durée est sensiblement supérieur aux

délais de la réaction photosynthétique complète ce qui implique une réduction de l'efficacité de la photosynthèse et par la suite une réduction de la productivité. [71]

Richmond rapport en 1988 que lorsque le chemin de lumière devient plus long, seulement une petite fraction des cellules dans une couche proche de la zone éclairée est exposée à des cycles L-D optimaux obligatoires pour l'utilisation la plus efficace de la lumière.

HU qiang et al 1998 ont signalé que les cycles L-D généré avec un chemin lumineux d'ordre de 10 mm ont donné une productivité nettement meilleure que celle générés avec des chemins lumineux plus longs. [71]

Grobbelaar a également constaté que la productivité augmentait à mesure que la fréquence du cycle L-D augmentait. [71]

On conclue donc que pour une meilleur productivité on doit améliorer la pénétration de la lumière dans un réacteur, soit en diminuant le chemin parcouru par celle-ci et augmenter le rapport surface/volume du réacteur, Soit en améliorant la fréquence d'intermittence entre cycles L-D imposées sur les cellules individuelles, de manière à favoriser une utilisation plus efficace de l'intensité lumineuse.

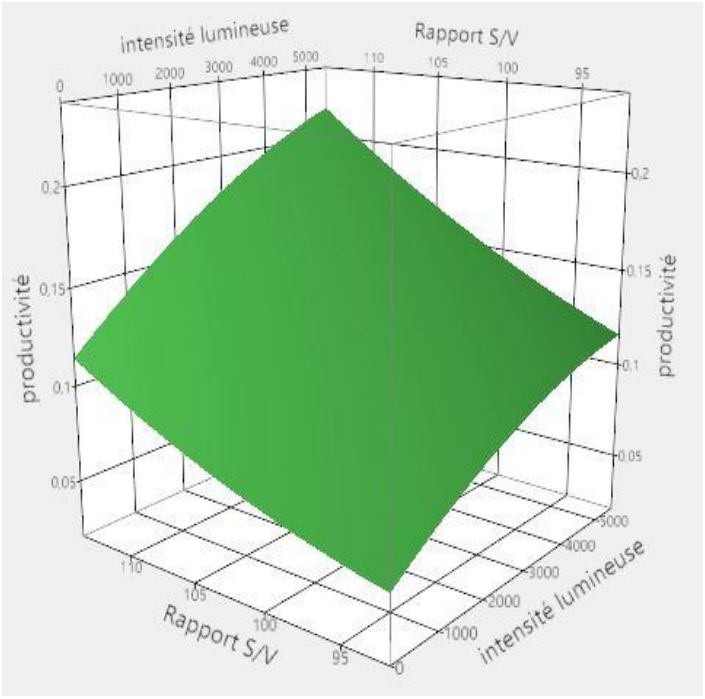


Figure III.16. Productivité en biomasse en fonction de l'intensité lumineuse et le rapport S/V.

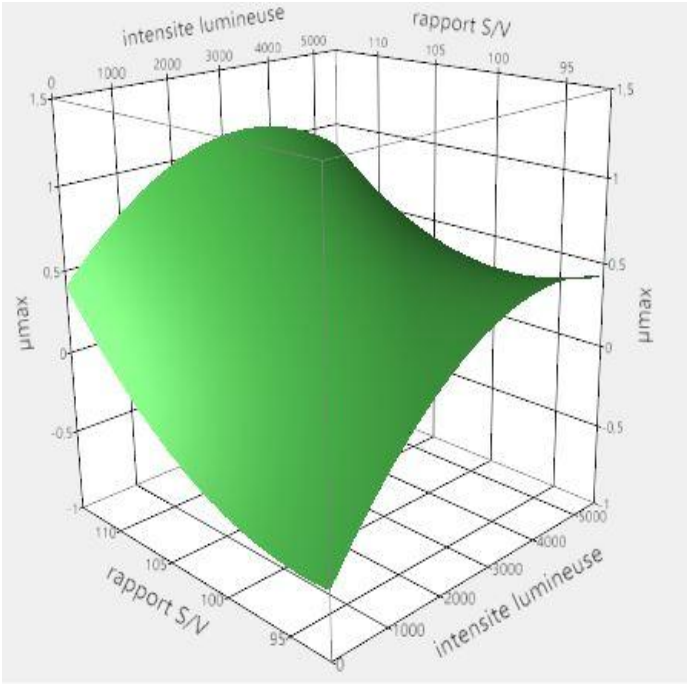


Figure III.17. Taux de croissance en fonction de l'intensité lumineuse et le rapport S/V.

III.3.5.3. Interaction entre le rapport S/V et la concentration initiale de l'inoculum

Les relations mutuelles entre le rapport S/V et la densité de population de l'inoculum par rapport à la productivité sont décrit dans la représentation ci-après (figure III.18.19)

On remarque que l'effet du rapport S/V sur la productivité en biomasse dépend de la concentration de l'inoculum de départ.

Tandis que la productivité la plus élevée correspond au réacteur avec un rapport S/V élevée et une faible concentration de l'inoculum de départ.

On note qu'une augmentation du rapport S/V et une diminution de la concentration de l'inoculum de départ résulte des meilleures productivités cela est due principalement au fait que la distribution de la lumière est favorable dans ces condition-là.

Amos Richmond et ses collègues (2004) affirment que plus le (S/V) est élevé, plus la concentration de cellules à laquelle le réacteur peut être exploité et plus la productivité en biomasse de la culture est obtenue.

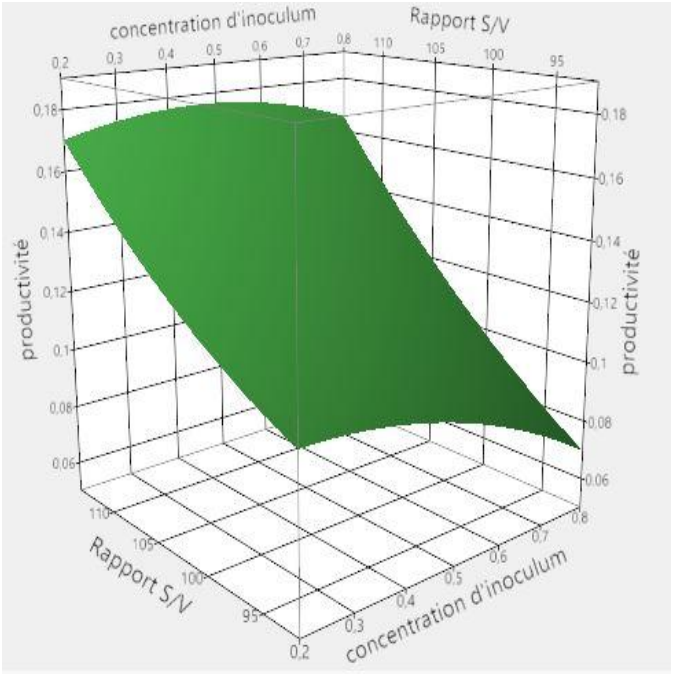


Figure III.18. Productivité en biomasse en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et le rapport S/V.

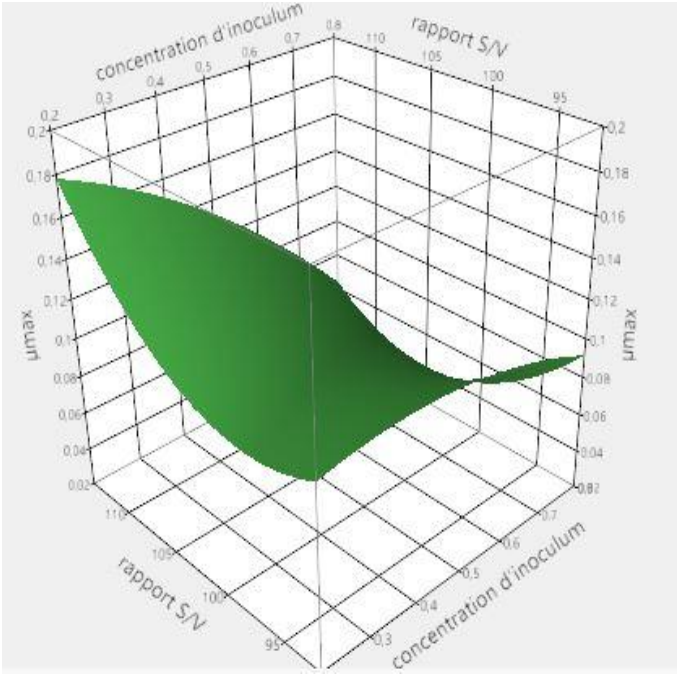


Figure III.19. Taux de croissance en fonction de la concentration de l'inoculum de départ et le rapport S/V.

III.3.6. Teneurs en biopigments

La spiruline possède l'un des taux les plus élevés en pigments chlorophylliens que l'on puisse trouver dans la nature (env. 1 %).

Elle est aussi l'un des aliments les plus riches en phycocyanine qui est une protéine complexe, spécifique à la spiruline et que l'en trouve nulle part ailleurs.

Les variations des teneurs en pigment chez la spiruline sont présentées à deux niveaux au tableau III.2. Puis illustrés dans la figure III.20.

Tableaux. III.2. Teneur en chlorophylle et en phycocyanine de la spiruline

Expérience	Teneur en chlorophylle	Teneur en phycocyanine	
	Concentration de la chlorophylle a	Taux de pureté de la phycocyanine	Concentration totale de la phycocyanine (PC)
1	11.313 mg/l	0.056	30 mg/l
2	18.995 mg/l	0.243	101 mg/l
3	10.338 mg/l	0.022	19 mg/l
4	6.506 mg/l	0.195	95 mg/l
5	11.965 mg/l	0.066	21 mg/l
6	8.792 mg/l	0.071	38 mg/l
7	9.580 mg/l	0.034	22 mg/l
8	14.741 mg/l	0.139	72 mg/l
9	6.292 mg/l	0.058	10 mg/l
10	10.946 mg/l	0.112	60 mg/l
11	8.349 mg/l	0.052	31 mg/l
12	4.142 mg/l	0.052	30 mg/l
13	11.298 mg/l	0.354	135 mg/l
Norme	11 [16]	150 [16]	

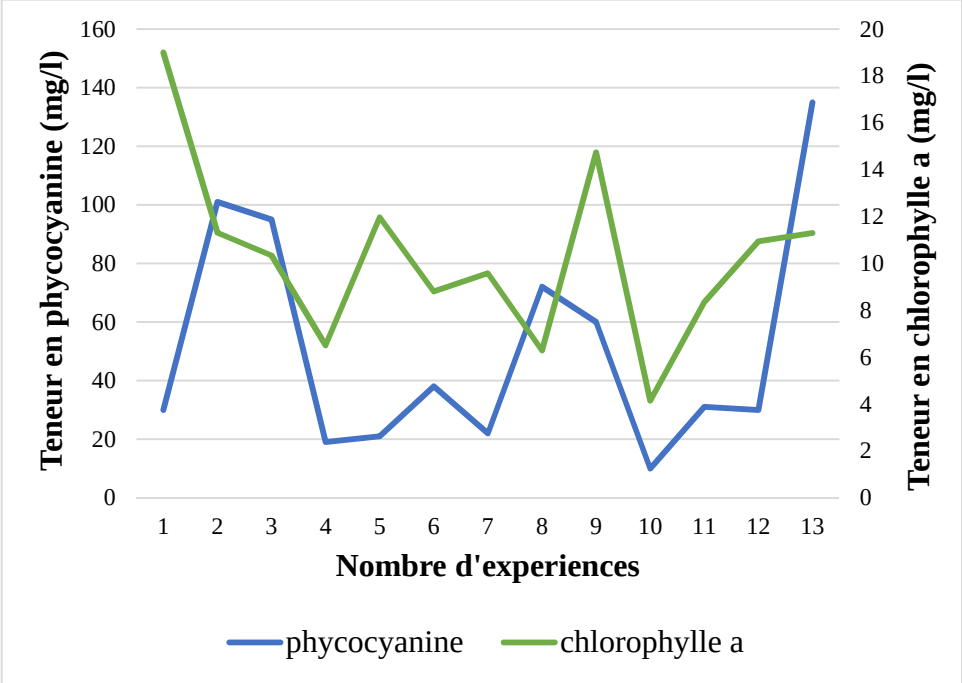


Figure III.20 . Teneur en pigment chez la spiruline

III.3.6.1.Teneur en phycocyanine

La phycocyanine est un pigment d'antenne utilisé principalement par des cyanobactéries et des algues eucaryotes pour accroître l'efficacité de la photosynthèse en collectant de l'énergie lumineuse à l'onde où les chlorophylles absorbent mal et en transférant l'énergie dans les membranes thylakoïdes là où la chlorophylle absorbe bien [72]

Selon les résultats obtenus (figure III.20), on note que les pics les plus élevée en phycocyanine sont atteint avec les deux expériences 2 et 13 là ou l'intensité lumineuse est faible (500 lux), Effectivement la teneur maximale en phycocyanine voir 135mg/l a été obtenue avec une faible intensité lumineuse 500 lux. Des valeurs faibles en phycocyanine caractérisent les cultures sous une intensité lumineuse élevée.

Donc une faible intensité lumineuse était plus favorable pour l'accumulation de phycocyanine.

La diminution de la teneur en phycocyanine à une intensité lumineuse plus élevée peut être expliquée par le fait que la quantité d'énergie lumineuse est complètement absorbée par le nombre croissant de cellules, donc les cellules nécessitent une teneur faible en pigments.

De même Chen et al 2013 ont rapporté une augmentation de 27% en phycocyanine, lorsque l'intensité lumineuse de la culture a diminué de 1300 à 100µmol/m²/s.

Les valeurs obtenues expérimentalement sont tout à fait acceptables. Nos résultats sont en adéquation avec ceux que nous avons répertoriés. Jean-Paul JOURDAN (2006) affirme que la teneur en phycocyanine pour l'Arthrospira platensis est en moyenne 150 mg/l.

III.3.6.2. Teneur en chlorophylle

Les chlorophylles sont des pigments verts trouvés dans les cyanobactéries, ils ont deux fonctions principales dans la photosynthèse : elles piègent l'énergie lumineuse et la transfèrent aux photosystèmes [I, II]

Les résultats ci-dessus indiquent que l'intensité lumineuse a un léger effet sur la synthèse de la chlorophylle pour l'Arthrospira. Cela peut être due au fait que les intensités lumineuses appliquée lors de ces expériences (500lux à 5000lux) n'a pas atteint la zone de saturation.

La littérature indique qu'au-delà de cette zone l'intensité lumineuse a un effet négatif significatif sur la synthèse de la chlorophylle, en effet au cours de l'absorption et le transfert d'énergie lumineuse, les chlorophylles génèrent inévitablement l'oxygène actif hautement réactif, en particulier sous forte lumière, conduisant à l'inhibition de la photosynthèse. [73]

De plus, de nombreux précurseurs de chlorophylles présents dans leur état libre sont des photosensibilisateurs puissants qui produisent des espèces réactives d'oxygène lors de l'éclairage lumineux. Par conséquent, la voie de la biosynthèse de la chlorophylle est strictement réglementé en réponse aux indices de développement et environnementaux. [74]

III.3.7. Détermination de la teneur en protéines

La teneur en protéines est un critère important d'appréciation de la qualité nutritionnelle de spiruline. Afin de déterminer sa teneur, en utilisant la méthode de dosage de vonshak (1997) qui est spécifique pour la spiruline.

La courbe étalon est réalisé en préparant des concentrations connues de HSA (albumine sérique humaine) comme le montre la figure ci-dessous :

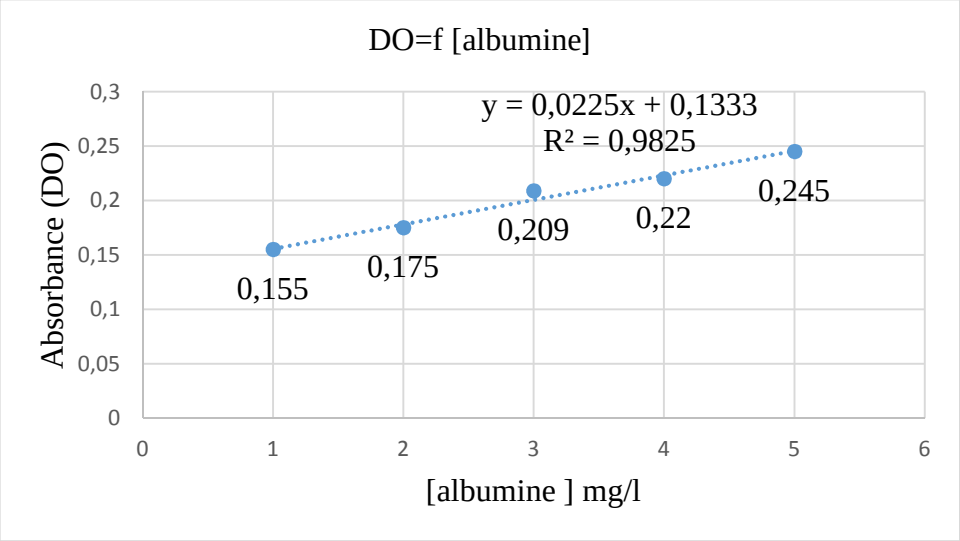


Figure III.21 Courbe étalon mettant en relief la relation entre la densité optique et la concentration en albumine de la souche de référence

Une fonction linéaire est obtenue entre les densités optiques par apport à la concentration en albumines avec une très bonne corrélation (R^2= 0.9825). L'équation reliant la densité optique et la concentration en albumines est définie expérimentalement par la relation (8) :

DO = 0.0225 [albumine] + 0,1333……..(III.4)

Cette proportionnalité permet de déterminer la quantité de protéine contenue dans un volume de prise d'essai de l'échantillon à doser.

D'autant que : DO (échantillon) = 1.217

On en déduit alors la concentration de la protéine à doser issue de l'équation précédente :

1.217 = 0.0225 [protéine] + 0,1333. ⟷ [Protéine] = 48 mg/l

Les résultats indiquent que la spiruline étudiée est composée de 48 mg de protéines par litre. Sachant que cette quantité mesurée est presque égale à celle attendue théoriquement, puisque la spiruline est constituée d'environ 65% de protéines (norme : >50). [22]

Cette teneur en protéine reflète l'état physiologique de notre spiruline sans aucun effet de lyse ou fragmentation des filaments.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les organismes photosynthétiques suscitent un intérêt grandissant, en raison de leur énorme potentiel intervenant au sein de nombreux systèmes et dans de multiples secteurs industriels. Leur production a connu un développement important ces quarante dernières années. [76]

Au cours de ce travail on a utilisé une micro-algue obtenue à partir de cyanobactéries du genre Arthrospira, qu'on a cultivé dans un nouveau photobioréacteur de forme annulaire (conique) afin d'optimiser la productivité volumique et la vitesse de croissance .toute en jouent sur trois paramètres essentiels, l'intensité lumineuse, la concentration de l'inoculum de départ ainsi que la surface spécifique du photobioréacteur.

En effet, il ressort de cette étude que :

L'effet de l'intensité lumineuse sur la productivité en biomasse microalgale est positif, plus on augmente la lumière plus on aura une croissance élevée jusqu'à un seuil limite de 15000 lux où la saturation est obtenue. Au-delà de cette valeur la lumière devient un facteur inhibiteur (a un effet de photolyse).

L'augmentation de la surface spécifique conduira nécessairement à la réduction des épaisseurs de cultures ainsi le meilleur rapport S/V est celui qui permet une diffusion optimale de la lumière (une surface éclairée élevée) ce qui correspond d'après les résultats au photobioréacteur de rapport S/ V =112 m^{-1}.

Les cultures d'algues avec des concentrations de l'inoculum élevées, entraînant une distribution non adéquate de la lumière et apparitions des phénomènes d'auto-ombrage donc afin d'éviter ces phénomènes la concentration initiale de culture doit être faible de 0.5 g/l.

On a noté des interactions positives entre la lumière et la surface spécifique avec une productivité optimale de 0.824 $g.l^{-1}.j^{-1}$ et un taux de croissance allant jusqu'à 0.284 j^{-1}.

Une augmentation de la concentration de l'inoculum a réduit la productivité en biomasse à faible intensité lumineuse, mais cet effet a été inversé lorsque l'intensité de la lumière était élevée.

On a montré par la suite que le teneur en pigments photosynthétique et en protéines de la spiruline est acceptable dans la gamme décrite par la littérature ce qui reflète sa bonne qualité et sa richesse nutritionnelle.

Conclusion générale

Perspective

Aujourd'hui, la production commerciale de biomasse d'Arthrospira est réalisée exclusivement dans systèmes ouverts. Les réacteurs fermés ont été employés jusqu'à présent pour la recherche et dans les petites installations sur le terrain. [22] C'est pour ça qu'on souhaite que le reste du travail soit approfondi surtout l'utilisation de cette nouvelle forme de photobioréacteur, et cela en choisissant une autre gamme des valeurs tel qu'une dense concentration de la culture de départ, des intensités lumineuses assez importantes au-delà de 15000 lux. De plus il sera intéressant d'essayer d'extrapoler à grande échelle cette nouvelle conception.

Référence bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Farrar W-V. 1966. Techuitlatl, a glimpse of Aztec food technology. Nature, Vol. 211 pp.341-342.

[2] J. Falquet J.-P. Hurni. 2006. Spiruline Aspects Nutritionnels Antenna Technologies. 41p.

[3] Paul Ricard. 2008. Colloque international" Spiruline et développement", à Toliara, Madagascar. Mém. Institut océanogr, 184 p.

[4] Jérémy PRUVOST, Jean-François CORNET, François LE BORGNE, Jean JENCK. 2011. Production industrielle de microalgues et cyanobactéries. IN200 V1. Universite paris descartes.

[5] Aurelie Lucchetti. 2014. Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues. Thèse Docteur En Pharmacie. L'école nationale supérieure des mines de Paris.

[6] J. Paniagua-Michel et al. 1993. Le "tecuitlatl", concentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques.vol.2, No 4. 283-287

[7] S. BOUDAOUD. 2016. L'incorporation de la spiruline sur les qualités nutritionnelles, organoleptiques et technologiques du couscous artisanal. Mémoire master en agronomie. Universite abou bekr belkaid- Tlemcen.

[8] C. Girardin-Andréani. 2005. Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer. Volume 3, Issue 4, pp 158–161.

[9] J.Leonard, et P. Compere. 1967. *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler, algue bleue de grande valeur alimentaire par sa richesse en protéines. 37 (1) : p. Suppl. 23 p.

[10] Christian Tal Schaller. 2002. L'alimentation plaisir : se nourrir et se régénérer agréablement et naturellement.135p.

[11] R.D.FOX. 1999. La spiruline : technique, pratique et promesse Edisud. 246P.

[12] C Sili et al. 2013. *Arthrospira* (Spirulina), .A. Whitton (ed.), Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time, 677.

[13] Hélène Cruchot. 2008. La spiruline bilan et perspectives. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite.

[14] GEITLER, L. 1932. Cyanophyceae. In Rabenhorts's Kryptogamenjloru von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. vol. 14, p. I.

[15] Loïc Charpy, Marie José Langlade et Romain Alliod. 2008. La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? »

[16] J.P. JOURDAN. 1999. Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline. Antenna Technology. París.

[17] J.Wang et al. 2008. Vitamin A equivalence of spirulina beta-carotene in Chinese adults as assessed by using a stable-isotope reference method . In The American journal of clinical nutrition 87 (6):1730-7.

Référence bibliographiques

[18] Watanabe F. & al. 1999. Pseudovitamin B (12) is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets. J Agric Food Chem.47 (11) :4736-41.

[19] ORIO CIFERRI. 1983. Spirulina, *le* micro-organisme comestible. P. 551-578 vol. 47,

[20] A. BOUDOUR. 2008. Recherche et essais de purification de *Spirulina* sp. Dans différents habitats et culture d'*Arthrospira* sp. PCC 8005. Magister en Diversité microbienne. Université Badji Mokhtar Annaba.

[21] F.Doumenge, H.Durand-Chastel, A. Toulemont .1993. Spiruline, algue de vie.Institut Océanographique de Monaco ; numéro spécial 12.Monaco : Musée Océanograhique.

[22] Avigad vonshak. 1997. *Spirulina platensis*: Arthrospira, physiology cell-biology and biotechnology. CRC Press, 233p

[23] Pierre Walsh ,Louis Legendre . 1982. Effets des fluctuations rapides de la lumière sur la photosynthèse du phytoplancton 1.volume 4, issue 2.

[24] P. Parikh, U.Mani, U.Iyer. 2001. Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. Journal of Medicinal Food 4: 193-199

[25] D. Remirez, R.Gonzalez, N.Merino, S.Rodriguez, O. Ancheta. 2002. Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice. Mediators of Inflammation 11: 75-79

[26] P. Spolaore, C.Joannis-Cassan, E.Duran, A.Isambert. 2006. Commercial Applications of Microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering 101: 87-96

[27] J. JENCK et al. 2011. Valorisation industrielle des microalgues photosynthétiques. IN201 V1. 7200105718 - universite Paris descartes .

[28] R.James, K.Sampath, R.Thangarathinam, I.Vasudevan. 2006. Effect of dietary spirulina level on growth, fertility, coloration and leucocyte count in red swordtail, Xiphophorus helleri. Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh 58: 97-104

[29] C.Regunathan , SG. Wesley . 2006. Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using Spirulina as a carotenoid source. Aquaculture Nutrition 12: 425-432

[30] R.Henrikson .1994. Microalga Spirulina, superalimento del futuro.

[31] M.Toyomizu, K.Sato, H.Taroda, T.Kato, Y.Akiba. 2001. Effects of dietary Spirulina on meat colour in muscle of broiler chickens. British Poultry Science 42: 197-202

[32] O.Ciferri . 1983. Spirulina, the edible microorganism. Microbiological Reviews 47: 551-578

[33] J.PRUVOST, J.F.CORNET, V.GOETZ et J.LEGRAND .2011. Modeling dynamic functioning of rectangular photobioreactors in solar conditions.

[34] M.R, Tredici. 2004. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: Richmond, A. (Ed.), Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. 178e214.

[35] Y.-K, Lee. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. J. Appl. Phycol. 13, 307e315.

Référence bibliographiques

[36] J.C.DODD. 1986. Elements of pond design and construction. Handbook of Microalgal Mass Cultures, p. 265-283.

[37] W.J. OSWALD .1988.Large-scale algal culture systems (engineering aspects).

In BOROWITSKA (M.), ed. Microalgal Biotechnology, Cambridge University Press, Cambridge, p. 357-394.

[38] O. PULZ .2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. Appl. Microbiol. Biotechnol., 57(3), p. 287-293.

[39] J.PRUVOST, F. LE BORGNE, J. LEGRAND et INVENTORS .2009. Photobioréacteur couche mince à haute productivité volumique.

[40] V. GOETZ , J. PRUVOST, J.LEGRAND , G.PLANTARD et INVENTORS.2010. Dispositif de contrôle de température d'un photobioréacteur solaire à éclairage direct.

[41] K.MORI. 1985. Photoautotrophic bioreactor using visible solar rays condensed by Fresnel lenses and transmitted through optical fiber. Biotechnology and Bioengineering

Symposium, *15*, p. 331-345.

[42] R.J.RADMER et INVENTOR.1990. «Photobioreactor».

[43] J.C.OGBONNA , H.YADA , H.MASUI et H.TANAKA .1996. A novel internally illuminated stirred tank photobioreactor for large-scale cultivation of photosynthetic cells.

Journal of Fermentation and Bioengineering, *82(1)*, p. 61-67.

[44] I.S.SUH et S.B.LEE.2003. A light distribution model for an internally radiating photobioreactor. Biotechnol. Bioeng., *82* , p. 180-189.

[45] J.C.OGBONNA , T.SOEJIMA et H.TANAKA. 1999. An integrated solar and artificial light system for illumination of photobioreactors. J. Biotechnol., *70* , p. 289-297.

[46] J.Y.AN et B.W.KIM. 2000. Biological desulfuration in an optical-fiber photobioreactor. using an automatic sunlight collection system. Journal of biotechnology,80 , p. 35-44.

[47] E.ONO et J.L. CUELLO. 2004 . Design parameters of solar concentrating systems for CO2 mitigation algal photobioreactor. Energy, 29, p. 1651-1657.

[48] G.O.SCHLEGEL, F.W.BURKHOLDER, S.A. KLEIN, W.A.BECKMAN, B.D. WOOD et J.D. MUHS. 2004. Analysis of a full spectrum hybrid lighting system. Sol. Energy,46, p. 359-368.

[49] E.ONO et J.L. CUELLO . 2006. Feasability assessment of microalgal carbon dioxide sequestration technology with photobioreactor and solar collector. Biosyst. Eng., 95, p. 597-606.

[50] J.W. ZIJFFERS, M. JANSSEN , J. TRAMPER et R.H. WIJFFELS .2008.Design process of an area-efficient photobioreactor.Mar. Biotechnol., 10, p. 404-415.

Référence bibliographiques

[51] M. JANSSEN, J.TRAMPER , L.R. MUR et R.H. WIJFFELS . 2003. Enclosed outdoor photobioreactors: Light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects. Biotechnol. Bioeng., 81(2), p. 193-210.

[52] J.F. CORNET.2010. Calculation of optimal design and ideal productivities of volumetrically. lightened photobioreactors using the constructal approach. Chem. Eng. Sci., 65 , p. 985-998.

[53] J.F. CORNET, V.GOETZ , G.PLANTARD, R.GARCIA, P.LAFON ,F. JOYARD et INVENTORS .2010. Photobioréacteur solaire à dilution contrôlée du flux en volume.

[54] A. RICHMOND. 2004. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors : an overview . Hydrobiologia, 512, p. 33-37.

[55]A.RICHMOND . 2004. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Sciences Ltd., Oxford, UK .

[56] Q.Hu, Zarnum, T.&A. Richmond.1998.Combined effects of light intensity, lightpath, and culture density on output rate of Spirulina platensis (Cyanobacteria). Eur. J. Phycol., 33, 165–71.

[57] J. PRUVOST, G.VAN VOOREN, G.COGNE et J. LEGRAND .2009.Investigation of biomass and lipids production with Neochloris oleoabundans in photobioreactor.Bioresour. Technol., 100 , p. 5988-5995 .

[58] João C. M. Carvalho, Marcelo C. Matsudo, Raquel P. Bezerra, Lívia S. Ferreira-Camargo and Sunao Sato.2014. Microalgae Bioreactors. Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products. P83-119.

[59] H. Znad et al. 2012. CO2 Biomitigation and Biofuel Production Using Microalgae: Photobioreactors Developments and Future Directions .

[60] B. Sonnleitner . 1999. Instrumentation of small scale bioreactors. In: Demain AL, Davies JE (eds) Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology. ASM Press. DC, Washington, p 221–235

[61] EW. Becker .1994. Microalgae-Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press, Cambridge, p 293

[62]Sánchez-Luna LD, Converti A, Tonini GC, Sato S, Carvalho JCM .2004.Continuous and pulse feedings of urea as a nitrogen source in fed-batch cultivation of Spirulina platensis. Aquac Eng 31:237–245

[63] Vieira DCM, Matsudo MC, Sato S, Converti A, Carvalho JCM .2012. Simultaneous use of urea and potassium nitrate for Arthrospira (Spirulina) platensis cultivation. Biotechnol J 7:649–655

[64] M. Ainas , S. Hasnaoui , R. Bouarab , N. Abdi , N. Drouiche , N. Mameri.2017. Hydrogen production with the cyanobacterium Spirulina platensis. Volume 42, issue 8 , p 4902 -4907

Référence bibliographiques

[65] François Denis et collaborateur Marie-Cécile Ploy. 2007. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Elsevier Masson .page 157-160

[66] Paul Hauduroy.2009. Microbiologie générale et technique microbiologique Masson, 1947 l'Université de Californie. Page 153-154

[67] c. Zarrouk. 1966. Contribution to the study of a Cyanophycea: influence of various physical and chemical factors on the growth and photosynthesis of Spirulina platensis. University of Paris.

[68] J.M. Doke. 2005. An Improved and Efficient Method for the Extraction of Phycocyanin from Spirulina sp. International Journal of Food Engineering. Vol. 1(2) :1-11.

[69] R.Sarada, Sila Bhattacharya and G.A.Ravishankar. 2002. Optimization of culture conditions for growth of the green alga *Haematococcus pluvialis***.** World journal of microbiology & biotechnology 18:517-521.

[70] Eleonora Sforza ,Barbara Gris, Carlos E.DE Farias ,Tomas Morosinotto , Alberto Bertucco.2014. Effects of Light on Cultivation of *Scenedesmus Obliquus* in Batch and Continuous Flat Plate Photobioreactor ; vol.38.

[71] HU Qiang A , YAIR zarmi B et Amos Richmond .2010.Combined effects of Light Intensity, Light-Path and Culture Density on Output Rate of *Spirulina platensis***.** (Cyanobacteria) .

[72] M. Kuddus,[1] P. Singh,[2] G. Thomas, AWDAH AL-Hazimi . 2013.Recent Developments in Production and Biotechnological Applications of C-Phycocyanin. BioMed Research International.Volume, Article ID 742859, 9 pages.

[73] E.D.G. Danesi, C.O. Rangel-Yagui, J.C.M. Carvalho, S. Sato .2004.Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*.Biomass and Bioenergy **.**Volume 26, Issue 4, Pages 329–335.

[74] MA Zhaoxue , HU Xupeng, CAI Wenjuan, HUANG Weihua, ZHOU XIN, LUO QIAN, YANG Hongquan, WANG JiaweI, HUANG Jirong.2014. *Arabidopsis* miR171-Targeted Scarecrow-Like Proteins Bind to GT *cis*-Elements and Mediate Gibberellin-Regulated Chlorophyll Biosynthesis under Light Conditions.

[75] Pietro Carlozzi.2002. Dilution of solar radiation through “culture” lamination in photobioreactor rows facing south–north: A way to improve the efficiency of light utilization by cyanobacteria (*Arthrospira platensis*).

[76] FILALI Rayen .2012. Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO2.Thése de doctorat .Ecole Doctorale « Sciences et Technologies de l’Information des Télécommunications et des Systèmes ».

Annexe

Annexe I

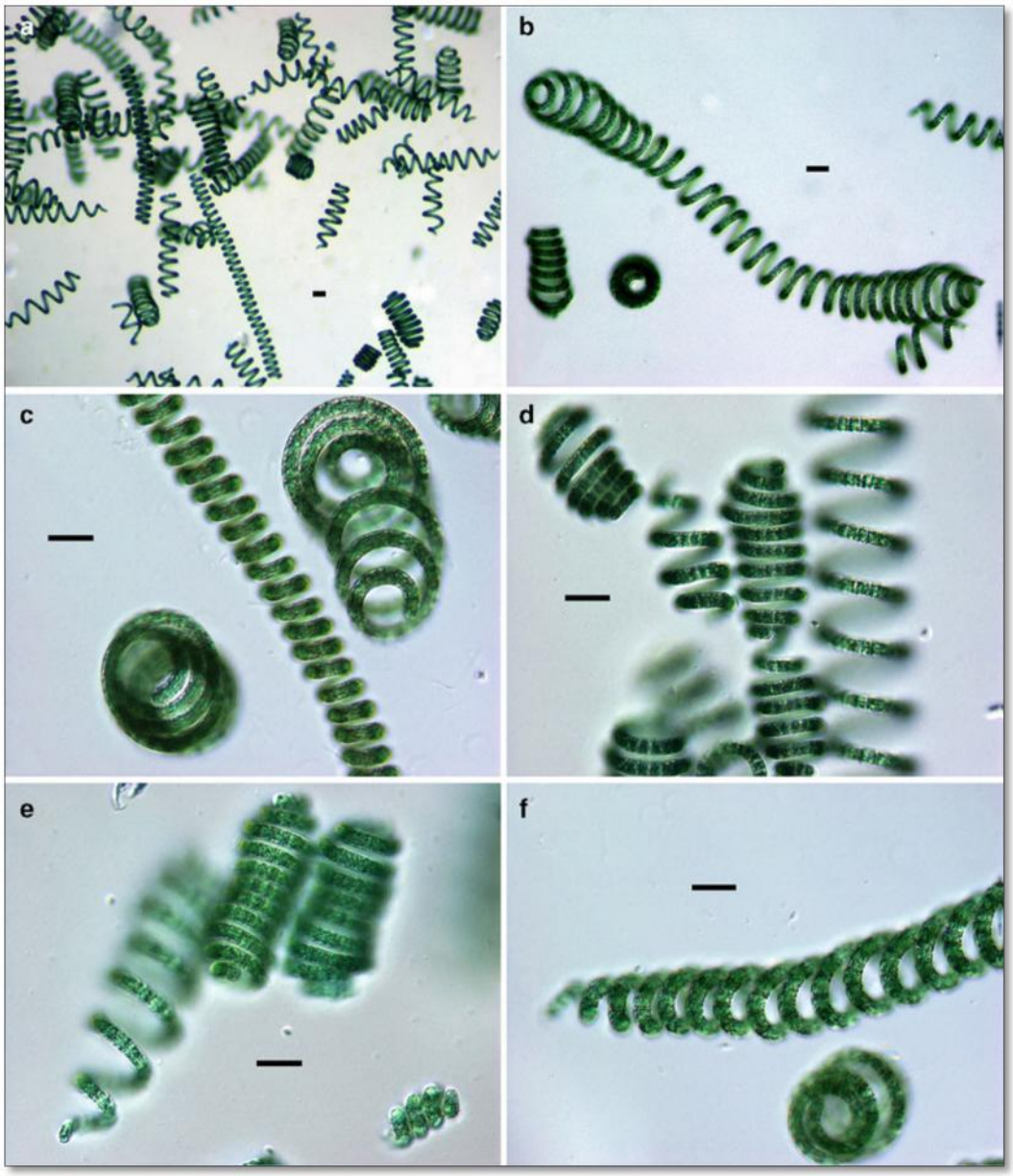


Figure I.1. La variabilité morphologique des trichomes d'*Arthrospira platensis (A.fusiformis)* isolées de Lac Kailala (Tchad) et cultivées en laboratoire. Marqueur bar = 20 mm [12]

Annexe

Tableau.I.1. Répartition géographique des principales populations d'Arthrospira [12]

Pays	**Localisation**	**Taxon**	**Références**
AFRIQUE			
Tchad	Les lacs Natron (Bodou, Mombolo, Rombou, Yoan) et les bassins (latin, Seirom, Latin, Liva), région de Kanem	*A. platensis*, *A. platensis* f. *minor*	Léonard et Compère (1967), Iltis (1972) et Rich (1931)
	Lac Kailala, lac Kossorom	*A. fusiformis*	Sili et al. (1999)
Kenya	Lacs Natron (Bogoria, Crater, Elmenteita, Nakuru)	*A. platensis*	Rich (1931) et Vareschi (1982)
	La vallée du Rift	*A. fusiformis*	Ballot et al. (2004)
	Lac Bogoria	*A. platensis*, *A. platensis* f . *minor* *A. fusiformis*	Tuite (1981) Hindák (1985)
	Lac simbi	*A. platensis* *A. platensis* = *A. fusiformis* *A. fusiformis*	Melack (1979) Kebede et Ahlgren (1996) Ballot et al. (2005)
	Lac Sonachi	*A. fusiformis*	Ballot et al. (2005)
	Lac Oloidien	*A. fusiformis*	Ballot et al. (2009)
Ethiopie	Lac Aranguadi	*platensis*	Melack (1979)
	Lac Chiltu, lac vert	*A. platensis* = *A. fusiformis*	Kebede et Ahlgren (1996)
Egypte	Lac Maryut	*A. platensis*	El-Bestawy et al. (1996)
Soudan	Lac Dariba, Jebel Marra	*A. geitleri*	Fott et Karim (1973)
Algérie	Étang Tamanrasset	*A. platensis*	Fox (1996)
Congo	Lac Mougounga Lac Kivu	*Arthrospira* sp. *Arthrospira* sp.	Fox (1996) Fox (1996)
Zambie	Lac Bangweolou	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)

Annexe

Tunisie	Lac Korba	*Arthrospira* sp.	Fathi et al. (2001)
Mozambique	Eaux usées	*A. fusiformis*	Mussagy et al. (2006)
Afrique du sud	Lac Tswaing	*A. fusiformis*	Oberholster et al. (2009)
ASIE			
Inde	Étangs	*A. maxima*	Desikachary et Jeeji Bai (1996)
	Lac lonar ; Étangs ; réservoir (Madurai, isolat MCRC)	*A. indica*	Desikachary et Jeeji Bai (1992)
Myanmar	Lac du cratère (chapitre 26)	*Arthrospira* sp.	Min Thein (1993)
Pakistan	Étang de poisson, Lahore	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
Sri Lanka	Lac Beria	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
Chine	Eaux de poissons, Nankin	*A.platensis*	Tsen et Chang (1990)
	Lac Bayannur	*A.platensis*	Zheng et al. (1992)
Thaïlande	Les lacs de production d'usine de tapioca, Bangkok	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
Russie	Lac tunatan, steppe sibérienne	*A. fusiformis*	Voronichin (1934)
Azerbaïdjan	Bassin d'eau, Khumbasha	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
Pakistan	étang, Lahore	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
AMÉRIQUE			
Mexique	Evaporateur solaire au lac Texcoco	*A. maxima*	Busson (1971)
Brésil	Lagune de Mangueira	*Arthrospira* sp.	Greque de Morais et al. (2008)
Californie	étang, Oakland	*A. maxima*	Gardner (1917)
	Lagune côtière, Del Mar	*A. platensis* a	Lewin (1980)
Pérou	lac Huachachina	*A. platensis*	Busson (1971)
		A. maxima	Desikachary et Jeeji Bai (1992, 1996)
Uruguay	Montevideo	*A. platensis* b	Gomont (1892)
EUROPE			
Espagne	Lac Santa Olalla	*Arthrospira* sp.	Rippka and Herdman (1992)
France	Lac tiny, Camargue	*Arthrospira* sp.	Fox (1996)
Hongrie	Adasztevel-Oroshaz	*Arthrospira* sp.	Busson (1971)
Roumanie	Étang alcalin près de Cluj-Napoca	*A. fusiformis*	Aldea et al. (2002)
Serbie	Des flaques salées près de la rivière Tamiš	*A. fusiformis*	Fuzinato et al. (2010)

Annexe II

Tableau II.1. Appareillage d'analyses physico-chimiques

Luxmètres	pH mètre	Programmateur journalier a curseurs	Pompe air aquarium	Programmateur électronique hebdomadaire
				
spectrophotomètre	**Conductimètre**	**centrifugeuse**	**Dessiccateur en verre**	**étuve**
				



Figure II.1. Les photobioréacteurs annulaires de forme conique



Figure II.2. Préparation de la préculture et de l'inoculum

Détermination du poids sec

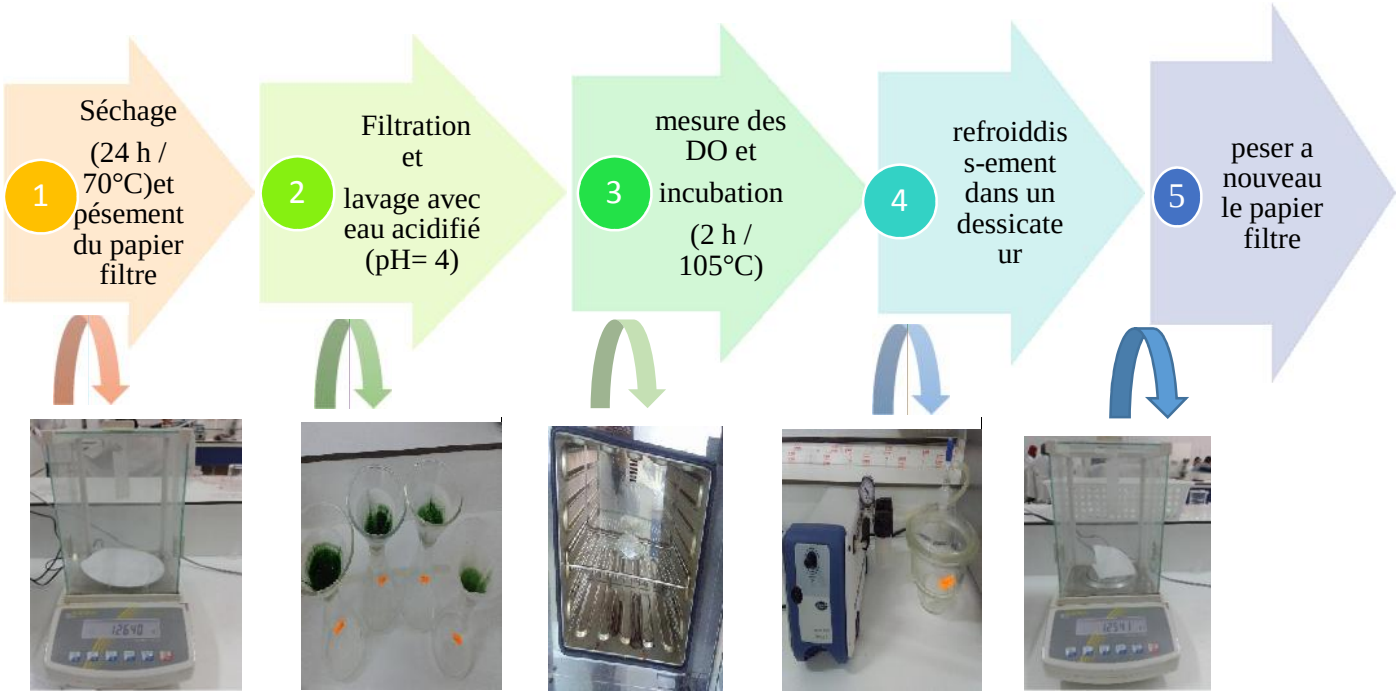


Figure II.3. Développement de procédé de détermination du poids secs.

Annexe III

1. Cinétique de croissance de la spiruline

Expérience 01 : X0 =0.500 I= 2750 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	05/03/2017	06/03/2017	07/03/2017	08/03/2017	09/03/2017	10/03/2017	11/03/2017	12/03/2017	13/03/2017	14/03/2017	15/03/2017	16/03/2017	17/03/2017
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**
Densité optique (DO)	0.656	0.780	0.893	0.920	1.02	1.102	1.196	1.297	1.797	1.899	1.219	1.456	1.456
Concentration en spiruline [C]	0.500	0.608	0.706	0.730	0.816	0.888	0.970	1.058	1.493	1.582	1.980	2.393	2.393

Expérience 10 : X0 =0.250 I=500 RATIO (S/V)=94

Date de démarrage de culture	05/03/2017	06/03/2017	07/03/2017	08/03/2017	09/03/2017	10/03/2017	11/03/2017	12/03/2017	13/03/2017	14/03/2017	15/03/2017	16/03/2017	17/03/2017	18/03/2017	19/03/2017
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**
Densité optique (DO)	0.369	0.465	0.605	0.902	1.055	1.189	1.204	1.603	1.650	1.675	1.718	1.747	1.757	1.910	1.910
Concentration en spiruline [C]	0.250	0.333	0.455	0.714	0.847	0.963	0.977	1.365	0.495	0.387	1.424	1.450	1.458	1.591	1.591

Annexe

Expérience 04 : X0 =0.750 I=500 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	**09/03/2017**	**10/03/2017**	**11/03/2017**	**12/03/2017**	**13/03/2017**	**14/03/2017**	**15/03/2017**	**16/03/2017**	**17/03/2017**	**18/03/2017**	**19/03/2017**	**20/03/2017**	**21/03/2017**	**22/03/2014**	**23/03/2017**	**24/03/2017**	**25/03/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**
Densité optique (DO)	0.943	0.969	0.985	0.998	1.102	1.109	1.111	1.112	1.120	1.156	1.194	1.425	1.461	1.582	1.587	3.00	3.00
Concentration en spirulin e [C]	0.750	0.772	0.786	0.798	0.888	0.894	0.896	0.897	0.904	0.935	0.968	1.169	1.201	1.306	1.310	2.541	2.541

Expérience 08 : X0 =0.75 I=500 RATIO (S/V)=94

Date de démarrage de culture	**19/03/2017**	**20/30/2017**	**21/03/2017**	**22/03/2017**	**23/03/2017**	**24/03/2017**	**25/03/2017**	**26/03/2017**	**27/03/2017**	**28/03/2017**	**29/03/2017**	**30/03/2017**	**31/03/2017**	**01/04/2017**	**02/04/2017**	**03/04/2017**	**04/04/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**
Densité optique (DO)	0.943	0.97	1.033	1.033	1.038	1.109	1.134	1.187	1.196	1.240	1.175	1.164	1.236	1.387	1.340	1.378	1.378
Concentration en spirulin e [C]	0.750	0.770	0.828	0.828	0.832	0.894	0.916	0.962	0.970	0.977	0.951	0.942	1.005	1.136	1.095	1.128	1.128

Annexe

Expérience 02 : X0 =0.500 I=500 RATIO (S/V)=103

Date de démarrage de culture	**19/03/2017**	**20/03/2017**	**21/03/2017**	**22/03/2017**	**23/03/2017**	**24/03/2017**	**25/03/2017**	**26/03/2017**	**27/03/2017**	**28/03/2017**	**29/03/2017**	**30/03/2017**	**31/03/2017**	**01/04/2017**	**02/04/2017**	**03/04/2017**	**04/04/2017**	**05/04/2017**	**06/04/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**	**J17**	**J18**
Densité optique (DO)	0.656	0.696	0.717	0.742	0.796	0.804	0.823	0.830	0.940	0.988	0.997	1.106	1.118	1.128	1.137	1.187	1.270	1.254	1.254
Concentration en spiruline [C]	0.500	0.534	0.553	0.575	0.622	0.629	0.645	0.652	0.747	0.789	0.797	0.892	0.902	0.911	0.919	0.962	1.034	2.041	2.041

Expérience 13 : X0 =0.25 I=500 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	**20/03/2017**	**21/03/2017**	**22/03/2017**	**24/03/2017**	**25/03/2017**	**26/03/2017**	**27/03/2017**	**28/03/2017**	**29/03/2017**	**30/03/2017**	**31/03/2017**	**01/04/2017**	**02/04/2017**	**03/04/2017**	**04/04/2017**	**05/04/2017**	**06/04/2017**	**07/04/2017**	**08/04/2017**	**09/04/2017**	**10/04/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**	**J17**	**J18**	**J19**	**J20**
Densité optique (DO)	0.369	0.505	0.606	0.698	0.773	0.883	0.907	1.242	0.800	1.745	1.900	1.787	1.975	2.228	2.336	2.411	2.622	2.747	2.856	1.565	1.565
Concentration en spiruline [C]	0.250	0.368	0.456	0.536	0.602	0.697	0.718	1.010	1.250	1.450	1.583	1.484	1.648	1.868	1.963	2.028	2.211	2.320	2.451	2.582	2.582

Annexe

Expérience 07 : X0 =0.250 I=5000 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	23/03/2017	24/03/2017	25/03/2017	26/03/2017	27/03/2017	28/03/2017	29/03/2017	30/03/2017	31/03/2017	01/04/2017	02/04/2017	03/04/2017	04/04/2017	05/04/2017	06/04/2017
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**
Densité optique (DO)	0.369	0.420	0.750	0.837	0.945	0.909	1.549	2.121	2.131	2.248	3.000	1.675	1.705	1.821	1.821
Concentration en spiruline [C]	0.250	0.294	0.582	0.657	0.751	1.440	1.278	1.775	1.784	1.886	2.541	2.774	2.826	3.028	3.028

Expérience 06 : X0 =0.750 I= 2750 RATIO (S/V)=103

Date de démarrage de culture	10/04/2017	11/04/2017	12/04/2017	13/04/2017	14/04/2017	15/04/2017	16/04/2017	17/04/2017	18/04/2017	19/04/2017	20/04/2017	21/04/2017	22/04/2017
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**
Densité optique (DO)	0.943	2.041	1.345	1.476	1.663	1.740	2.115	2.169	2.237	2.267	2.325	2.522	2.522
Concentration en spiruline [C]	0.750	1.706	1.099	1.214	1.376	1.444	1.770	1.817	1.876	1.902	1.953	2.125	2.125

Annexe

Expérience 03 : X0 =0.750 I=5000 RATIO (S/V)=94

Date de démarrage de culture	**02/04/2017**	**03/04/2017**	**04/04/2017**	**05/04/2017**	**06/04/2017**	**07/04/2017**	**08/04/2017**	**09/04/2017**	**10/04/2017**	**11/04/2017**	**12/04/2017**	**13/04/2017**	**14/04/2017**	**15/04/2017**	**16/04/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**
Densité optique (DO)	0.943	1.047	1.365	1.722	2.018	3.00	2.425	2.614	2.740	2.482	2.546	2.595	2.780	2.998	2.998
Concentration en spiruline [C]	0.750	0.840	1.117	1.428	1.686	2.541	2.040	2.205	2.314	2.090	2.145	2.188	2.349	2.540	2.540

Expérience 12 : X0 =0.750 I=5000 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	**02/04/2017**	**03/04/2017**	**04/04/2017**	**05/04/2017**	**06/04/2017**	**07/04/2017**	**12/04/2017**	**13/04/2017**	**14/04/2017**	**16/04/2017**	**17/04/2017**	**18/04/2017**	**19/04/2017**	**20/04/2017**	**21/04/2017**	**22/04/2017**
Les Jours	**J0**	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**
Densité optique (DO)	0.943	1.582	1.985	2.257	2.732	2.778	1.447	2.820	2.842	2.851	2.858	1.411	2.945	2.989	2.195	2.195
Concentration en spiruline [C]	0.750	1.306	1.633	1.894	2.307	2.347	2.377	2.384	2.403	2.411	2.417	2.314	2.493	2.531	3.679	3.679

Annexe

Expérience 11 : X0 =0.250 I=5000 RATIO (S/V)=94

Date de démarrage de culture	**13/04 /2017**	**14/04 /2017**	**15/04 /2017**	**16/04 /2017**	**17/04 /2017**	**18/04 /2017**	**19/04 /2017**	**20/04 /2017**	**21/04 /2017**	**22/04 /2017**	**23/04 /2017**	**24/04 /2017**	**25/04 /2017**	**26/04 /2017**	**27/04 /2017**	**28/04 /2017**	**29/04 /2017**	**30/04 /2017**	**02/05 /2017**	**03/05 /2017**	**04/05 /2017**
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**	**J17**	**J18**	**J19**
Densité optique (DO)	0.369	0.469	0.689	0.864	0.735	0.817	0.973	1.032	1.058	1.136	1.325	1.560	2.732	1.797	1.999	2.010	2.018	2.023	2.565	2.625	2.625
Concentration en spiruline [C]	0.250	0.337	0.528	0.681	0.568	0.640	0.776	0.827	0.850	0.918	1.082	1.287	2.307	1.493	1.669	1.679	1.686	1.690	2.162	2.214	2.214

Expérience 05 : X0 =0.500 I= 2750 RATIO (S/V)=103

Date de démarrage de culture	**20/04/2017**	**21/04/2017**	**22/04/2017**	**23/04/2017**	**24/04/2017**	**25/04/2017**	**26/04/2017**	**27/04/2017**	**28/04/2017**	**29/04/2017**	**30/04/2017**	**02/05/2017**	**03/05/2017**
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J13**	**J14**
Densité optique (DO)	0.656	0.940	1.287	1.553	1.653	1.902	2.115	2.420	2.547	2.634	2.728	2.999	2.999
Concentration en spiruline [C]	0.500	0.747	1.049	1.281	1.368	1.585	1.770	2.036	2.146	2.222	2.304	2.540	2.540

Annexe

Expérience 14 : X0 =0.750 I= 15000 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	**25/04/2017**	**26/04/2017**	**27/04/2017**	**30/04/2017**	**01/04/02017**	**02/05/2017**
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**
Densité optique (DO)	0.943	1.734	3.00	1.899	1.292	0.954
Concentration en spiruline [C]	0.750	1.438	2.541	3.338	1.053	0.759

Expérience 15 : X0 =0. 500 I= 15000 RATIO (S/V)=112

Date de démarrage de culture	**06/05/2017**	**07/05/2017**	**08/05/2017**	**09/05/2017**	**10/05/2017**	
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**
Densité optique (DO)	0.656	1.600	2.031	2.262	2.230	1.089
Concentration en spiruline [C]	0.500	2.643	3.393	3.796	1.870	0.877

Expérience 09 : X0 =0.500 I= 5000 RATIO (S/V)=103

Date de démarrage de culture	**01/05/ 2017**	**02/05/ 2017**	**03/05/ 2017**	**04/05/ 2017**	**05/05/ 2017**	**06/05/ 2017**	**07/05/ 2017**	**08/05/ 2017**	**09/05/ 2017**	**10/05/ 2017**	**11/04/ 2017**	**12/05/20 17**	**13/05/ 2017**	**14/05/ 2017**	**15/05/ 2017**	**16/05/ 2017**
Les Jours	**J1**	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**	**J12**	**J13**	**J14**	**J15**	**J16**
Densité optique (DO)	0.656	0.875	1.002	1.331	1.430	1.806	2.005	2.080	2.162	2.454	2.589	2.786	2.942	3.00	1.731	1.731
Concentration en spiruline [C]	0.500	0.690	0.801	1.087	1.174	1.501	1.674	1.740	1.811	2.065	2.183	2.354	2.490	2.540	2.871	2.871



Figure III.1. Variation des valeurs des paramètres cinétiques en fonction du nombre d’expériences

2. les résultats de l'extraction des protéines

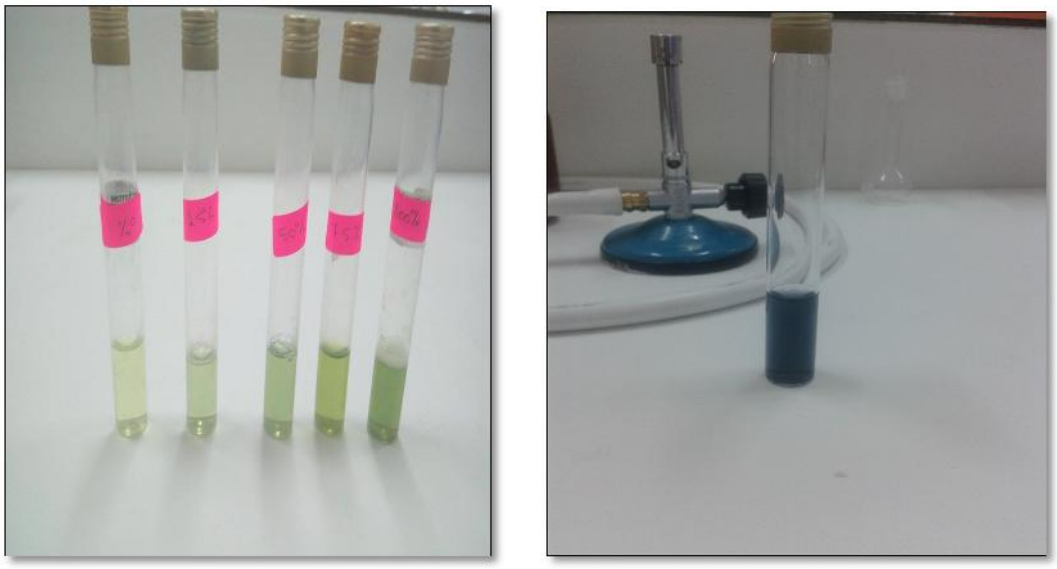


Figure III.2. Les gammes de dilution du HSA ainsi que notre suspension

3. Spiruline vue au microscope

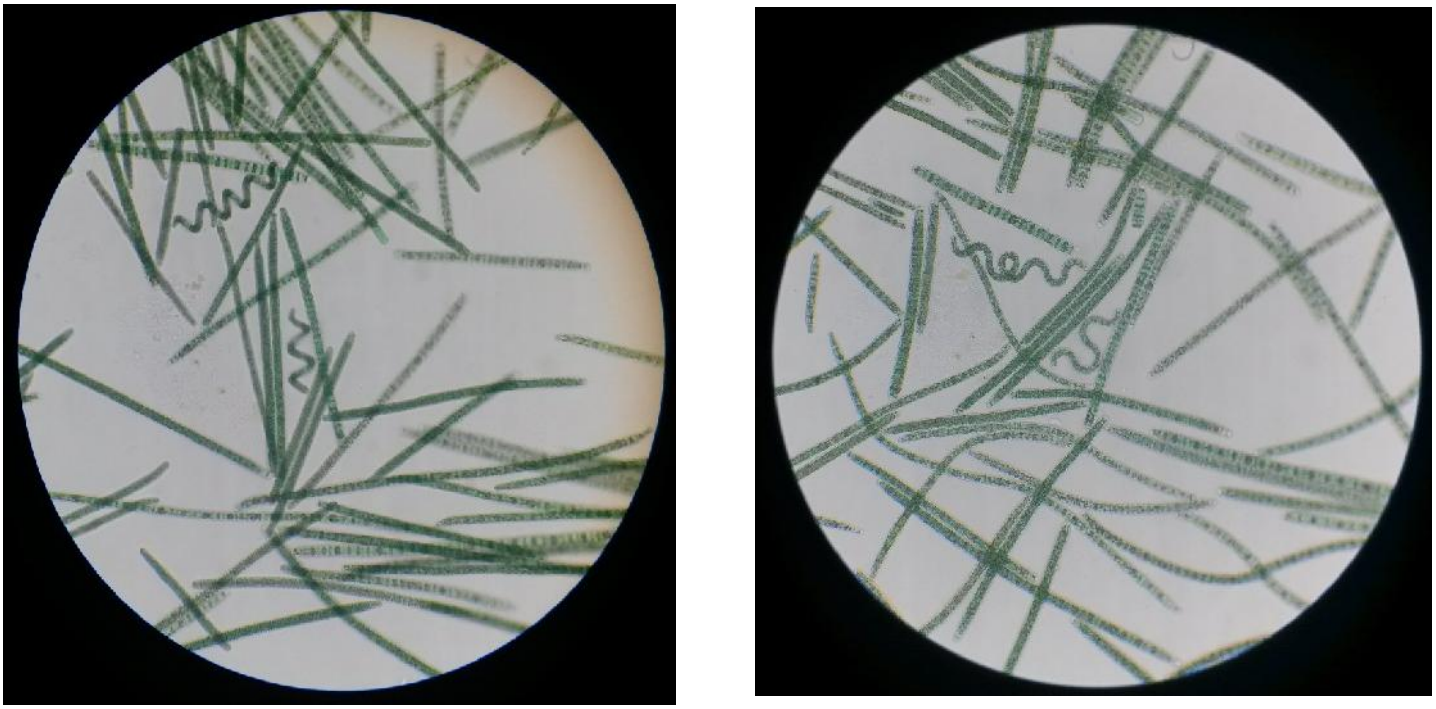


Figure III.4. Observation microscopique (Etat frais ×40)

4. Analyse statistique

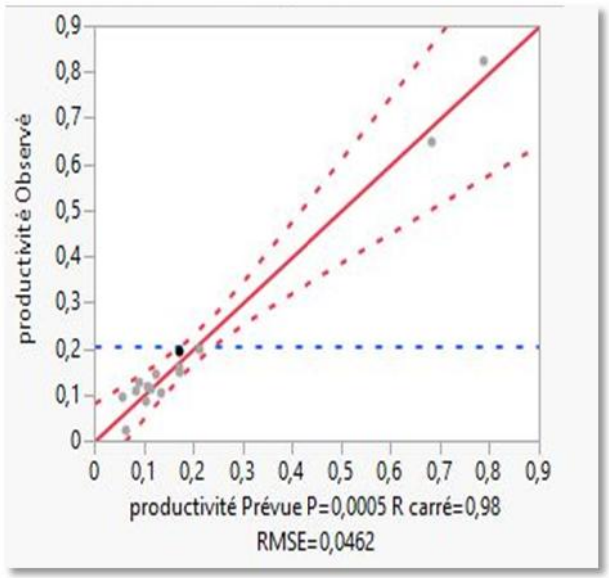


Figure.III.5. Graphique des valeurs observés on fonction des valeurs prévue (Px)

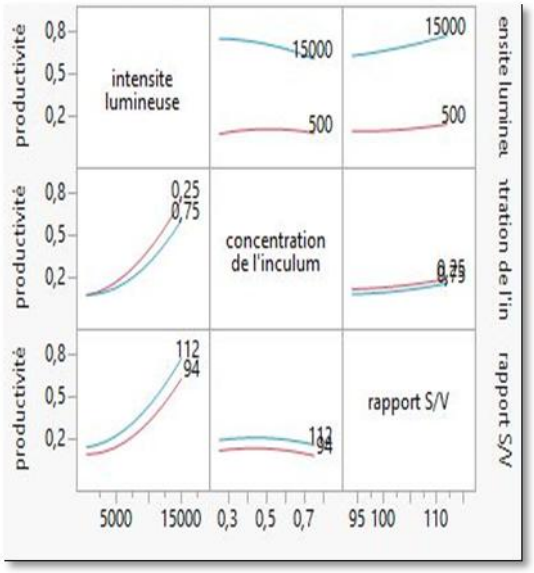


Figure.III.6. Profils d'interaction

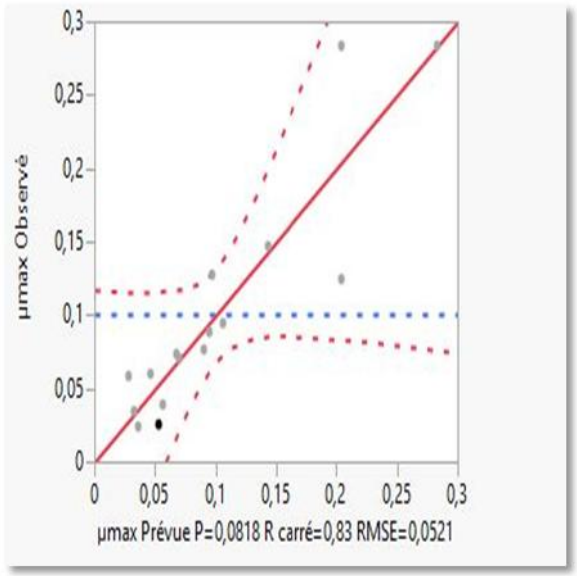


Figure.III.7. Graphique des valeurs observés on fonction des valeurs prévue (µmax)

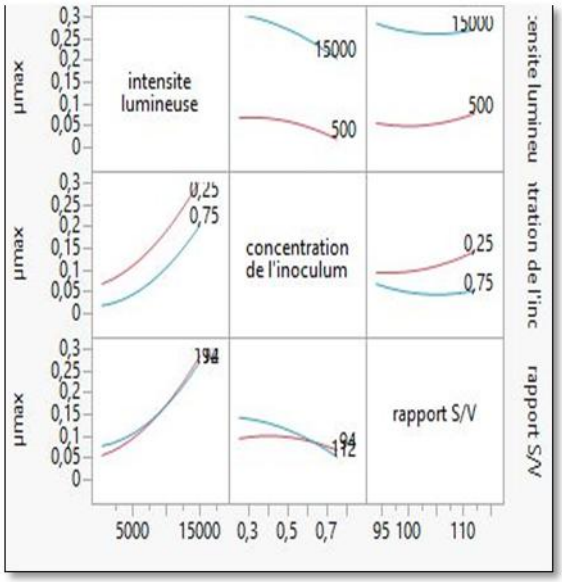


Figure.III.8. Profils d'interaction