République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Génie de Procédés et Environnement



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie

Option: Normes et contrôle de qualité

EFFET DES FACTEURS PHYSIOLOGIQUES SUR LA PRODUCTION D'UNE BIOMASSE ALGALE (ARTHROSPIRA PLATENSIS) ET VITESSE DE CROISSANCE

Présenté par :

BENDEHENDI Noureddine

BELGHAZI Ali

Proposé et dirigé par :

M.AINAS M

Promotion 2014-2015

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Allah qui nous a

Donné le courage.la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promoteur Mr : AINES.M

D'avoir accepté de nous encadrer et pour le suivi

Continuel tout le long de la réalisation de ce mémoire et qui

a cessée de nous donner ses conseils et des remarques.

Nous remercions également chaleureusement les personnes nous

a encouragé à finir ce travail par des gestes d'amitié dont

Nous sommes reconnaissants. A titre d'exemple, nous citerons les ingénieurs de laboratoire de technologie d'université de Médéa.

Nos remerciements vont aussi au président du jury et

Aux membres du jury examinateurs qui nous ont fait l'honneur

De participant au jugement de ce travail.

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

Et enfin nous remercions l'ensemble, collègues de nos promos

De normes et contrôle de qualité 2014/2015 et tous nos amis et toute personne ayant participé de prés ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tous, je remercie dieu le tout

Puissant de m'avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce travail malgré toutes les difficultés rencontrées.

Je dédie se modeste travail à Mes parents mon trésor dans cette vie

Mon frère: Tahar, Ismail

Mes sœurs : Louisa et Rihab Et aux petits anges:

Adem, Aicha, Hodeïfa

Toutes les familles: BENDEHENDI, BOUCHHIR

A mon cher binôme : BELGHAZI Ali

Mes Amies : Bahae, Oualid, Faouzi, Djamel, Mohamed,

Salim, Djalal, Noureddine, Hichem, Sofiane, Youcef, Boubaker,

Zakaria, MokhtaRima, Souad, Naziha, Chahira,

Sara, Soumia……Et toutes mes amies

Tous mes enseignants, mes collègues de la promotion

2014/2015 de Master 2 normes et contrôle de qualité

BENDEHENDI NOUREDDINE

ملخص

نقدم في هذا العمل تأثير مجموعة من العوامل الفيزيولوجية الحموضة ودرجة الملوحة وخصائص الفوتوبيورياكتور على **إنتاج الطحالب** (الارتوسبيرا بلاتونسيس) اكتسبنا من خلال دراسة سلالة سبيرولينا في وسط زروق مع العديد من درجات الحموضة والملوحة وتأثير الفوتوبيو رياكتور المخروطي .

من خلال دراستنا تبين **أن أفضل مستوى للحموضة** هو09**والملوحة** 17و25 **ملم** .تأثير شدة الضوء يؤثر بشكل كبير على الإنتاجية الحجمية . من خلال زراعة عينة 2.25غ**ل وشدة ضوء** 10000ليكس اعطت **أحسن** إنتاجية عالية مع قيمة كلوروفيل 5.62غ/ل قيمة البروتين % 70

الكلمات المفتاحية : سبيرولينا ، كثافة مضيئة، الكلوروفيل ، البروتينات ، **الملوحة ، درجة الحموضة ، السطح،** الفوتوبيوريلكتور.

Résumé

Ce mémoire présente l'effet de quelques facteurs physiologiques :pH ; salinité ; paramètres PBR sur la production et la vitesse de croissance d'une biomasse algale(*Arthrospira platensis)*. Nous avons cultivée la souche Spiruline dans le milieu Zarrouk, avec plusieurs degrés de pH, salinités et effets PBR conique. A l'issus de notre étude, on a pu constater que le meilleur degré de pH, salinité été respectivement de (09) et (17 et 25mM). L'effet de l'intensité lumineuse influence grandement la productivité volumique. Pour une culture de 2.25g/l, une intensité lumineuse de 10000 lux donne une productivité élevée avec des teneures en chlorophylle de ($[ch_a]$= 5.62 mg/g) et en protéines de (70%).

Mots clés : spiruline ; PBR (photo-bioréacteur) conique ; intensité lumineuse ; chlorophylle ; protéines ; salinité ; pH ; surface.

Abstract

This study presents the effect of some physiological factors such as: pH; salinity and PBR parameters on the production and the growth rate of algal biomass (*Arthrospira platensis)*. We've cultivated spiraline strain on ZARROUK medium with several scales of pH, salinities and PBR conic effects. As a result, we found that the best degree of pH and salinity was respectively of (09) and (17 et 25mM). The effect of luminous intensity influences greatly the volume productivity. For a culture of 2.25 g/l, an intensity of 10000 lux gives a high production with chlorophyll contents of ($[ch_a]$ = 5.62 mg/g) and of proteins (70%).

Key words: spiruline ; PBR (photo-bioréacteur) conic ; luminous intensity; chlorophyll ; proteins ; salinity ; pH ; surface

Liste abréviation

Chla : chlorophylle a

CID : le carbone inorganique dissous

DO : la densité optique

Ms: matière sèche

OEC : complexe d'oxydation de l'eau

Pi : phosphate inorganique

PRB : photo-bioréacteur

PSI : photosystèmes I

PSII : photosystèmes II

G : le temps de génération

Px : productivité volumique

$\mathbf{U_{max}}$:vitesse de croissance

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure I.1	Différentiation *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis* : Filaments de spiruline observés au microscope optique	08
Figure I.2	Cycle biologique de la Spiruline	09
Figure I.3	Composants nutritionnels de la spiruline	11
Figure I.4	Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse	12
Figure I.5	d'*Arthrospira platensis* (source: Antenna Technologie modifié)	13
Figure II.1	Les étapes membranaires du processus de photosynthèse se déroulant chez les plantes vertes, les algues et les cyanobactéries	21
Figure II.2	Représentation de l'équilibre entre les réactions de photosynthèse et de respiration, chez les organismes photosynthétiques	22
Figure II.3	Modèle de bassin de production de spiruline	23
Figure II.4	: Un bassin en tissu polyamide enduit PVC Eco Park, Madurai, Tamil Nadu (Inde) 18 m², 1998	24
Figure II.5	Photo-bioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en écloserie	25
Figure II.6	: Photobioréacteur tubulaire pour la culture de *Spirulina spp.* en extérieur utilisant une surface réfléchissante (Tredici et Materassi 1992)	25
Figure II.7	Photobioréacteurs plats : photobioréacteur de 500 L construit au laboratoire de l'Institut Jacob Blaustein pour le projet "Desert Research" (Richmond 2000)	26
Figure II.8	Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de micro-algues	27
Figure II.9	Système de régulation thermique: photo-bioréacteur plat à compartiments de culture et de circulation d'eau (a) et schéma d'un photo-bioréacteur plat équipé de: 1 chambre interne de culture; 2 chambre de régulation externe de température; 3 récolte; 4 entrée et 5 sortie d'eau de refroidissement; 6 port d'entrée des tubes d'air; 7 sortie d'air; 8 port de prélèvement; 9 ports des sondes pH, température, O2 etc.; 10 mur de tubes fluorescents (b) (Hu *et al.* 1998b	29
Figure III.1	Schéma d'un cône traqué	35
Figure III.2	l'effet de pH et de salinité sur la croissance de spiruline	36
Figure III.3	l'effet de PBR conique sur la croissance de spiruline	36

Liste des figures

Figure III.4	Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle	41
Figure III.5	l'extraction et purification de chlorophylle	41
Figure III.6	les étapes extraction de protéine	42
Figure III.7	Le Spectre d'absorption du complexe Coomassie-protéine	43
Figure III.8	Courbe d'étalonnage de l'albumine humaine, λ=595 nm	44
Figure III.8	Courbe étalon mettant en relief la relation entre la densité optique et le poids sec de la souche	
Figure IV.1	Cinétique de croissance de spiruline dans deux PBR	46
Figure IV.2	schéma présente l'effet de lumière sur les deux PBR (conique et cylindrique)	47
Figure IV.3	Cinétique de croissance de spiruline dans différente salinité.	47
Figure IV.4	Cinétique de croissance de spiruline dans différente pH.	48
Figure IV.5	Cinétique de croissance de spiruline dans différente intensité lumineuse à Ps=3.5 g/l V=200ml	49
Figure IV.6	Cinétique de croissance de spiruline dans différente intensité lumineuse (10000lux.5500lux) de 2.25g/l à 200ml	49
Figure IV.7	effet de la lumière sur taux de croissance spécifique de spiruline	50
Figure IV.8	Cinétique de croissance de spiruline dans différente concentration de départ (2.25g.3.5g) à l'intensité lumineuse de 10000lux.	51
Figure IV.9	Cinétique de croissance de spiruline dans différente concentration de départ(1g/L.3.5g/L) à l'intensité lumineuse de 1800lux.	51
Figure IV.10	Modélisation de la pénétration de la lumière dans un réacteur rectangulaire éclairé d'un seul côté	52
Figure IV.11	Cinétique de croissance de spiruline dans différente volume PBR (200ml.500ml).	52
Figure IV.12	histogramme présente les productivités de chaque expérience dans le PBR de 200ml.	53

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
Tableau I.1	Déférence entre les cellules d'algue bleue spiruline, procaryote et cellules d'algue verte eucaryote	05
Tableau I.2	Taxonomie récapitulative	09
Tableau II.1	présente une suite d'exemples d'algoculture expérimentale tirés de la littérature scientifique.	24
Tableau II.2	présente une suite d'exemples d'algoculture expérimentale tirés de la littérature scientifique	27
Tableau III.1	composition de milieu Zarrouk	32
Tableau III.2	composition de la solution A_5 (g /l)	33
Tableau III.3	composition de la solution B_6 (en mg/l)	33
Tableau III.4	combinaison des expériences des rois PBR	39

Table de matière

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
I .la spiruline d'un point de vue scientifique	3
I .1. Cyanobactérie et spiruline :	3
I .1.1. Cyanobactérie, premier organismes photosynthétique	3
I.1.1.1. Biologie et écologie :	3
I.1.1.2.Reproduction	4
I.1.1.3.Toxicité	4
I .2.spiruline:	6
I. 2-1. Etude biologique:	6
I .2.1.1. Historique :	6
I.2.1.2. Définition :	7
I .2.1.3. Taxonomie :	8
I.2.1.4. Reproduction :	9
I.2.1.5. Composition de Spiruline	10
I .2.1.6. Les souches d'*arthrospira platensis :*	12
I.2.2.étude écologique :	14
I .2.2.distribution géographique	14
I .3. Culture de la spiruline :	15

I.3.1. Conditions de culture	15
I .3.1.1. Température	15
I .3.1.2.la lumière	16
I .3.1.3.Le pH	16
I .3.1.4.La salinité	16
I .3.2. Milieu de culture	16
I .3.2.1. L'eau	16
I .3.2.1.les éléments nutritive	17
I .4. Intérêt et utilisation:	18
I .4.1. Intérêt	18
I .5. Toxicologie :	19
Chapitre II	
II. micro-algues	20
II .1.Généralités sur les microorganismes photosynthétiques	20
II .1.1.Croissance de spiruline	20
II .2 .Rendement photosynthétique des micro-algues	22
II.2. Méthodes de cultures en masse	23
II.2.1. Bassins ouverts	23
II.2. Photo-bioréacteurs :	23

II. 2.1.Qu'est ce qu'un photo-bioréacteur	24
II. 2.2.Les photo-bioréacteurs à colonne verticale	25
II. 2.3.Les photo-bioréacteurs tubulaires	25
II. 2.4.Les photo-bioréacteurs plats	26
II.2.5.La lumière et le photo-bioréacteur	27
II.2.5.Caractéristiques des principaux types de photo-bioréacteurs	27
II- 2.5.1.Eclairage	28
II.2.5.2.Dimensions des photo-bioréacteurs	29
II. 2.6.Régulation	30
II.2 .6.1.Contrôle du pH	31
II.2.6.2.Contrôle de la température	31
Chapitre III	
III. Matériels et méthodes	32
III.1. Matériels biologique	32
III .2. Appareillage	32
III.2.1.Le milieu de culture	32
III.2.2. Conception de photo-bioréacteur	34
III.3.Procédés expérimentales	35
III.3.1. Conditions de culture	35

III .3.2. Préparation de pré-culture de spiruline	36
III .3.3. Contrôle de la contamination de la souche	36
III .3.4.Mesure de la matière sèche	37
III .3.5. Mesure de concentration des cultures	38
III .4. Mesure des paramètres cinétique de croissance	38
III .4.2. La productivité	38
III .5. Optimisation des facteurs physiologiques sur la croissance	39
III .5.1.Effet de salinité	39
III.5.2. Effet de pH	39
III.5.3. Effet de densité de culture et l'intensité d'éclairage sur la production de biomasse	39
III.6.Détermination de teneure en chlorophylle	40
III.7. Extraction et dosage des protéines	42
III.7.1. Dosage de protéine par méthode de Bradford(1976)	42
III.7.2 Préparation de réactif de Bradford	43
III.8 la détermination du poids sec	45
III.8 .1 La courbe étalon	45
Chapitre IV	
IV. Résultats et discussions	
IV.1 comparaison de cinétique entre PBR conique et cylindrique	45

IV.2 Caractérisation physiologique	46
IV.2.1 Effet de salinité sur la cinétique de croissance	46
IV.2.2 Effet de pH sur la cinétique de croissance	47
IV.3 Effet de l'intensité lumineuse sur la cinétique de croissance	48
IV.4Effet de l'inoculum de départ sur la cinétique de croissance	49
IV.5 Effet de surface de contacte sur la cinétique de croissance	51
IV.6Comparaison entre les déférentes productivités	52
IV. 7 Teneure en protéines et chlorophylles	53
CONCLUSION	54
BIBLIOGRAPHIE	

Introduction

Introduction

Le groupe des cyanobactéries, anciennement appelées algues bleues, compte parmi l'une des plus anciennes formes de vie sur Terre et constitue l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène. Parmi elle existe le genre *Spirulina* ou *Arthrospira*, des cyanobactéries filamenteuses dont fait partie une bactérie particulièrement intéressante dénommée *Spirulina platensis* (ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de algue Spiruline. Consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique, et connue par les scientifiques depuis plusieurs décennies pour sa richesse nutritionnelle, elle fait l'objet d'une redécouverte depuis quelques années. Riche en nutriments tel que protéines, glucides, lipides, vitamines et minéraux, elle est à l'étude ou déjà utilisée sur tous les continents par des ONG pour lutter contre la malnutrition [1].

Compte tenu de ses caractéristiques, la culture de la spiruline pourrait être une solution pour améliorer la santé humaine, la nutrition notamment dans les pays du tiers-monde et également pour développer des cultures industrielles. Cette cyanobactérie semble actuellement l'une des meilleurs solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité et, du fait, de grandes entreprises se sont lancées dans la culture de cet organisme à une échelle industrielle [1]

Outre des propriétés nutritionnelles avérées, la spiruline connaît aujourd'hui un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique internationale du fait de sa possible utilisation comme source de produits à vertus thérapeutiques. En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique [1].

La production de *Spirulina platensis* dans un milieu synthétique tel que le milieu ZARROUK considéré comme étant un milieu de référence pour la culture de spiruline, est très coûteuse vu les exigences trop élevées en éléments minéraux de cette algue, l'épuisement rapide des minéraux et la difficulté de maintenir des conditions de culture favorables à *Spirulina platensis* sont les inconvénients de ces milieux [2].

Les facteurs contrôlé tel que PH, salinité, Intensité lumineuse influence grandement sur la productivité et le rendement de culture. Le type et le forme de PBR joue un rôle important dans l'exposition de la culture à la lumière pendant la phase éclairé. Les différentes PBR

utilisé pour la production de biomasse et chaque type de PBR sont ces avantages et ces inconvénients.

Le PBR plat présente une meilleure pénétration de la lumière grâce a son épaisseur réduite une demande élevé d'espace reste limite ou grand échelle.

Le PBR cylindrique donne du bonne conduite de culture, la pénétration de lumière reste la limite de pour le rendement de culture.

La PBR tubulaire a une bonne exposition de culture a sont diamètre $2.5 \leq d \leq 5cm$ et un grain espace, la présence d'o_2 dégage de photosystème crée de stress oxydative dans le PBR. Dans la nécessite de connecté de la ponte de la PBR en dégage en connexion dans tube en série.

Le PBR conique de faible épaisseur est 2.5cm et bonne pente incliné et minimise l'effet d'inflexion de lumière.

L'objectif de notre travail est l'optimisation des paramètres pour production de biomasse algale en de photo-bioréacteur conique, on va jouer sur trois facteurs l'intensité lumineuse et concentration primaire d'algue et la surface.

Notre mémoire est divisé en quatre chapitres, la première présente la spiruline ses caractéristiques (physiques, biologiques et écologiques), son histoire, sa qualité nutritionnelle, qualitative et quantitative Etant donnée que la spiruline est une algue photosynthétique .La deuxième parties présenter les micro-algues et Méthodes de cultures en masse .La troisième parties comporter les différentes matériels et méthodes utilisée traite du matériel expérimental . Aussi, nous avons présentés dans le quatrième chapitre les résultats obtenus et leurs discussions. Il est suivi d'une conclusion générale.

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: la spiruline d'un point de vue scientifique

I .la spiruline d'un point de vue scientifique :

I .1. Cyanobactérie et spiruline :

I .1.1. Cyanobactérie, premier organismes photosynthétique :

Apparues il y a environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, les cyanobactéries sont, avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur Terre. Il en existe au moins 2000 espèces réparties dans plus de 150 genres. Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure tant par leur diversité morphologique et physiologique que par le rôle qu'elles ont joué en créant l'atmosphère aérobie nécessaire au développement de la vie. En effet, ces organismes procaryotes partagent avec les plantes la capacité d'effectuer la photosynthèse en utilisant la lumière et l'eau pour la réduction du gaz carbonique, processus qui s'accompagne d'un dégagement d'oxygène. Encore de nos jours, les cyanobactéries jouent un rôle dans l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène. [4]

I.1.1.1. Biologie et écologie :

La plupart des cyanobactéries sont capables de se déplacer, soit à l'aide de vésicules gazeuses (dans les liquides), soit dans le cas des cyanobactéries filamenteuses, par glissement (jusqu'à 25 microns par seconde) grâce à des microfibres [5]. Ainsi, elle sont colonisé à peu près tous les milieux, qu'ils soient aquatiques ou terrestres, dans des conditions extrêmes puisqu'on les observe dans les glaces des pôles, dans des sources d'eaux ferrugineuses, dans les geysers...Certaines cyanobactéries vivent en association avec des organismes animaux ou végétaux. Dans les eaux courantes comme stagnantes, leur mode de vie peut être planctonique (vivant dans la masse d'eau et se laissant transporter par ses mouvements) ou benthique (fixés aux substrats immergés) [6]. Grâce à leur activité biologique, ces espèces ont pu générer des formations géologiques, les stromatolithes. Ces roches carbonatées ont pu se former en abondance en piégeant ainsi le gaz carbonique de l'atmosphère primitive et ainsi participer à la modification de l'atmosphère primitive terrestre.

Anciennement appelées algues bleues puis cyanophycées, elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires; dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments appelés trichomes composés de cellules alignées. La taille des cellules de cyanobactéries se situe généralement entre 1 et 10 microns. Leur paroi est de type Gram-négatif classique [5] [7].Une des caractéristiques des

cyanobactéries est qu'elles possèdent des thylacoïdes, siège de la photosynthèse [9].Malgré ce système photosynthétique proche de celui des eucaryotes car contenant de la chlorophylle-a et un photosystème II (PS-II), ce sont de vrais procaryotes (organismes dépourvus de membrane nucléaire) (Tableau 1). Le photosystème, ainsi que les pigments photosynthétiques, les pigments accessoires et les composants du transport d'électrons sont ainsi inclus dans des membranes thylacoïdes comportant des granules dites "phycobilisomes". L'association des granules protéiques à une partie pigmentaire donne les phycobiliprotéines. Ces granules contiennent en particulier un pigment essentiel au transport de l'énergie vers le PS-II, la phycocyanine. Cette protéine contient un groupement prosthétique de type polypyrrole qui lui confère une magnifique couleur bleue ainsi qu'une fluorescence rouge exceptionnellement efficace. C'est de cette couleur bleue caractéristique que provient la dénomination « algue bleue » donné à cet organisme. Les cyanobactéries assimilent le carbone à travers le cycle de Calvin et stockent énergie et carbone sous forme de glycogène. Bien que leurs schémas métaboliques varient considérablement, elles ont en commun l'absence de cycle de Krebs complet. Beaucoup de cyanobactéries, surtout parmi les filamenteuses, sont capables de réduire ("fixer") l'azote de l'air grâce à des structures spécialisées appelées hétérocystes [5] [7].

Elles jouent ainsi un rôle important dans le cycle de l'azote, puisqu'elles ont la capacité de transformer l'azote atmosphérique en ammonium ou en nitrates, substances assimilables par les plantes à la mort des cyanobactéries.

I.1.1.2.Reproduction

La reproduction est végétative, c'est à dire asexuée et s'effectue par scission simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard. Chez certaines espèces, des cellules spécialisées (akinètes) peuvent résister à la dessiccation puis "germer" lorsque les conditions redeviennent favorables. Selon les espèces et les conditions environnementales, les temps de doublement des populations varient de quelques heures à plusieurs jours [8].

I.1.1.3.Toxicité

Actuellement une quarantaine d'espèces de cyanobactéries sécrètent des cyanotoxines qui sont généralement des neurotoxines pouvant être mortelles pour l'homme ou l'animal agissant sur différents organes cible (foie, système nerveux). Les genres principaux reconnus pour

produire des toxines sont Anabaena, Aphazinomenon, Cylindrospermopsis, Microcystis, Nodularia, Oscillatoria, Planktothrix.

La plus grande partie des cyanotoxines produites s'accumulent à l'intérieur des cellules et l'ampleur de la production semble être corrélée avec la phase de croissance des cyanobactéries.

Ensuite, lorsque les bactéries sont à la fin de la période de sénescence, elles meurent et se lysent, provoquant le relâchement des toxines dans le milieu environnant. Ainsi, lorsque la période de floraison est en progression, on retrouve très peu de toxines extracellulaires alors que vers le déclin de celle-ci, la concentration de toxines extracellulaires augmente énormément [9].

Tableau I.1. : Déférence entre les cellules d'algue bleue spiruline, procaryote et cellules d'algue verte eucaryote [7]

	Algue verte ,eucaryote	Algue bleue ,procaryote
Paroi cellulaire	Épaisse, formée de couches cellulosiques	Quatre couches minces de mucopolymères et polysaccharides; sans cellulose mince, servant de barrière osmotique ; transport actif de substrat sélectionné et site de réactions enzymatiques clés
Membrane cytoplasmique	Mince, perméable, elle enferme les corps structurés subcellulaires	
Chloroplaste	Site de la photosynthèse ; thylacoïdes contenant des grains ou des paquets de chlorophylle enfermés dans une membrane à double paroi	Absence, remplacés par les thylacoïdes
Thylacoïdes	Filaments pigmentés, contenus dans le chloroplaste	Filaments pigmentés, distribués plus ou moins au hasard dans la cellule et non entourés d'une membrane
Vacuole	Sert au transport des ions et à la régulation de la pression osmotique	Absence, à part les vésicules de gaz pour régler la flottabilité
Corps de golgi	Site de la synthèse des polysaccharides et autres fonctions	Absence
Mitochondrie	Site de la respiration et du métabolisme des acides gras	Absence
Noyau	Partie entourée de membrane contenant le nucleolus, l'ADN et des protéines	Absence ; ADN et ARN sont distribués plus ou moins au hasard dans la cellule et non entourés d'une membrane
Nucleolus	Structure à l'intérieur du noyau qui contient ARN et des protéines	Absence
ribosomes	Le mécanisme de réglage utilisé dans la	

	synthèse des protéines à partir des acides aminés ; travaille en conjonction avec l'ARN messager, l'ARN de transport et le triphosphate de guanosine, la source de transfert d'énergie	Comme pour les cellules eucaryotes
Vacuole de gaz	absence	Présence ; corps cylindriques utilisés pour réguler la flottabilité et donc la quantité de lumière reçue par les cellules
Goutte de lipide	absence	Présence
Corps polyédriques	absence	Présence, réservoir possible de protéines ribonucléiques
Granules polyphosphates	absence	Présence; réservoir de substances pour le transfert d'énergie
Fibrilles d'ADN	absence	Présence
Septum d'invagination	absence	Forme de nouvelles cellules et parois
Enveloppe nucilagineuse	absence	Épaisseur très variable selon les espèces

I .2.spiruline:

I .2.1. Etude biologique:

I .2.1.1. Historique :

La spiruline a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de *Spirulina* jenneri platensis Nordstedt dans l'Algae aquae dulcia exsicc. Fascicule XIV n°679 de Descriptiones systematice dispositae, page 59 : « Trichomata aeruginea, stratum tenue saturate aerugineum formantia, fagilia, in spiram laxam et amplissimam, diametro 26µad 36µ aequantem contorta, anfractus 43µ ad 57µ inter se distances ; articuli subquadrati, vel diametro breviores, 2µ ad 6µ longi, protoplasmate grosse granuloso dissepimenta vulgo obducente farcti (v.s.) Hab. Ditionen Uruguay, Americae meridionalis, propre Montevideo ». Cette citation est de Maurice Gomont (1892) « Trichomes érugineux, groupés en couche mince érugineuse, fragiles, enroulés régulièrement en spires larges et très ouvertes, intercellulaires, légèrement atténués en extrémité, sans calyptre, de diamètre 6 à 8µ ; spires écartées de 43 à 57µ ; cellules aussi longues que larges, ou plus courtes que le diamètre, longues de 2 à 6µ, contenant un protoplasme empli de granules grossiers qui, amassés, cachent les parois intercellulaires. Se trouve en Amérique du Sud, près de Montevideo, en Uruguay » [7].

Desikachari, 1959, donne une description similaire : Thalles bleu-vert ; trichomes légèrement contractés aux parois cellulaires, larges de 6-8µ, pas ou peu atténués aux extrémités, enroulés en spirales plus ou moins régulières ; spires de diamètre 26-36µ ; entre

spires de 43-57µ ; cellules presque aussi longues que larges, ou plus courtes que larges, longues de 2 à 6µ ; parois cellulaires granulées ; cellules d'extrémité largement arrondies. Dans les eaux stagnantes, Lahore, Pakistan ; Calcutta, Bengale et Lac Beira à Ceylan » [7].

En France, Gilles Planchon et Rosario Fuentes ont trouvé de l'*Arthrospira* poussant en Camargue, au sud de la France, tout à fait hors de la zone de température où cet organisme croît d'habitude : diamètre des cellules 6,4µ, longueur 2 à 3µ. Trichomes (généralement de 3 spires) très peu ou pas resserrés aux parois intercellulaires, d'aspect réticulé, couleur vert-jaunâtre ou bleu-vert ; cellules extrêmes arrondies ; diamètre de la cellule ou du trichome à peine aminci ; bonne mobilité. Le pH était de 9,1[7].

A l'heure actuelle, un minimum de 50 souches d'*Arthrospira* a été découvert de par le monde et étudié pour en décrire sa diversité génétique. Il n'existerait alors qu'une ou deux espèces génétiques parmi ces souches, ce qui laisse à supposer que le nombre d'espèces de ce genre est fortement réduit [10]. Les souches les plus connues et les plus utilisées actuellement restent A. *platensis* provenant du Tchad et A. maxima provenant du Mexique [7].

D'autres descriptions d'*Arthrospira platensis* ont été réalisées dans de nombreux pays,

La spiruline (*Arthrospira*) a une morphologie très variable. Parfois les spires au centre du trichome sont plus rapprochées qu'aux extrémités et la forme générale peut être celle d'un diabolo, avec un diamètre de spire plus petit au centre et aux extrémités. Les spires peuvent être espacées régulièrement avec un diamètre constant. Elles peuvent être nombreuses ou pas, et le filament peut alors paraître droit. Toutes ces variations dépendent de la souche et donc principalement du lieu d'origine où elle a poussé et la distribution géographique d'*Arthrospira* est importante [7].

I .2.1.2. Définition :

La spiruline est un petit être aquatique (0,3 mm de long) dénommée «algue bleue», dont le nom scientifique est "cyanobactérie *Arthrospira platensis*», pluricellulaires, se présentant sous forme de filaments mobiles (diamètre de 0,1 mm, 0,3 à 1 mm de long), non ramifiés et enroulés en spirale (**Figure I-1**), et qui évoquent un minuscule ressort à boudin. C'est d' ailleurs cet enroulement en spirale qui leur a valu le nom de "*spirulina*". Selon [11] [12], cette première définition est une dénomination ancienne, la spiruline n' est pas à proprement parler une algue, même si par commodité on continue à la désigner comme telle.

Elle est un genre (*Arthrospira*) de cyanobactéries. Elle représente une forme de vie charnière entre le règne végétal et le règne animal des bactéries. En effet, comme les végétaux elle contient de la chlorophylle et comme les bactéries elle possède des parois dépourvues de cellulose. Elle pousse à l' état naturel dans certains lacs alcalins dont le pH se situe entre 8,5 et 11 en zone chaude. On distingue trois espèces principales de spiruline :

**Spirulina maxima* découverte au Mexique.

**Spirulina platensis* découverte en Afrique.

**Spirulina jeejibai* découverte en Inde.

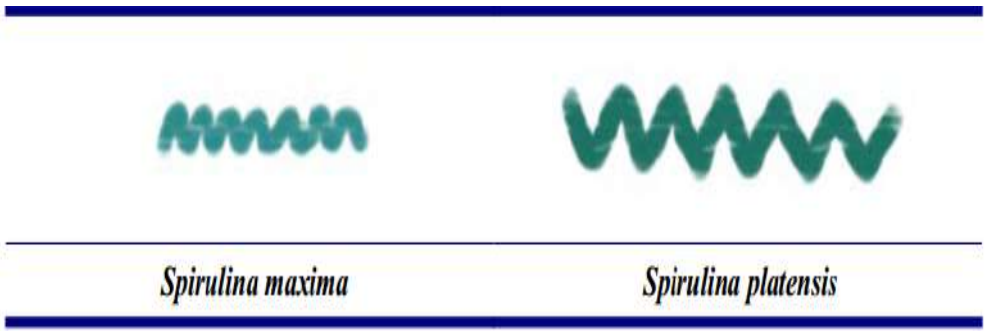


Figure I-1 : Différentiation *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis* : Filaments de spiruline observés au microscope optique [13].

I .2.1.3. Taxonomie :

D'un point de vue taxonomique, selon la classification dans le Manuel de Bergey de Bactériologie Determinative", la spiruline (*Arthrospira*) appartient au groupe des cyanobactéries (Castenholz and Waterbury, 1989; Whitton, 1992), qui on la classe selon Ripley Fox (1999a) dans:

Tableau I.2 : Taxonomie récapitulative [7] [14] [15] [16].

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

I .2.1.4. Reproduction :

Le cycle biologique de la Spiruline représenter dans la (Fig **I-2**.) : un filament en maturité forme des cellules spéciales appelées nécridies, au niveau de ces cellules le trichome se fragmente pour donner naissance à de nouveaux individus de courtes chaînes (2 à 4 cellules) appelées hormogonies[17]. Par division binaire des cellules, les hormogonies croissent en longueur et prennent la forme typiquement hélicoïdale. Dans les conditions expérimentales, le temps de génération maximal de la Spiruline est voisin de 7 heures (Zarrouk, 1966) [18].

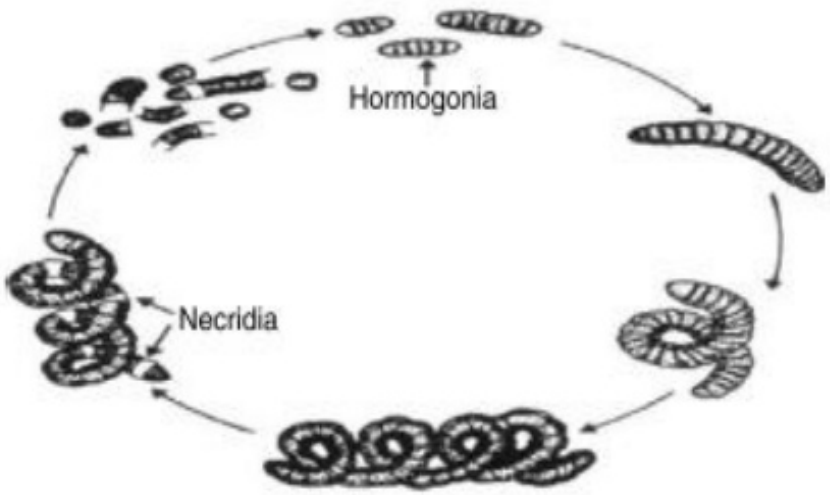


Figure. I.2 : Cycle biologique de la Spiruline [17]

I .2.1.5. Composition de Spiruline *:*

La spiruline est un aliment naturel qui a des valeurs nutritionnelles exceptionnelles en protéines, lipides, glucides et vitamines. Sa composition chimique varie en fonction de la souche et le milieu de croissance, La composition biochimique de la spiruline a été analysée depuis 1970[19] , a regroupé la composition chimique de la spiruline selon différente source [20] .

A-Protéine :

La composition biochimique de la spiruline a été analysée depuis 1970, montrant une forte concentration de protéine, 60 à 70% de son poids sec, Toutefois, dans le cas d'enfants souffrant de malnutrition, il serait réaliste d'inclure jusqu'à 10 g de spiruline dans la ration quotidienne, ce qui peut représenter, suivant le poids de l'enfant, plus de 50% de l'apport protéique recommandé [11] [12][21][22]

La valeur nutritive est liée à la qualité de l'acide aminé, qui contient des acides aminés essentiels, y compris la leucine, l'isoleucine et la valine. Un apport optimal d'acides aminés essentiels peut être obtenu en consommant la spiruline en complément de céréales telles que le riz, le blé et le millet, ou des graines oléagineuse [23].

B-Glucide :

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines. L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9.7%) ou encore de glycogène (0.5%) [17][11][12].

C-Lipides :

La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés. La composition des principaux acides gras révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels, incluant des oméga-3 et des oméga-6 qui préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme [21][22].

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols [28].

La spiruline est considérée comme l'une des meilleures sources alimentaires connues d'acide γ-linolénique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes, fort chères et non chauffées (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) [23] .

D-Vitamines :

La Spiruline est une algue vitaminée, elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière. Il contient aussi une concentration relativement élevée en provitamine A, vitamine B 12 et β-carotène [19][23][25].

E-Minéraux et Oligoéléments :

Les minéraux les plus intéressants chez la spiruline sont le calcium, le magnésium, le phosphore et le potassium. Les trois premiers minéraux cités sont présents dans la spiruline à des teneurs comparables à celles trouvées dans le lait. Les oligo-éléments présentant le plus d'intérêts dans la spiruline sont le fer, zinc, le sélénium [23].

F-Poly phénols :

Parmi les polyphénols qui se trouve dans la spiruline, astaxanthine, la zéaxanthine, la lutéine, échinénone, oscillaxanthin et myxoxanthophylle ([19][26]. Ces polyphénol a une propriété d'ontioxydant les plus soluble dans l'eau [19][27] .

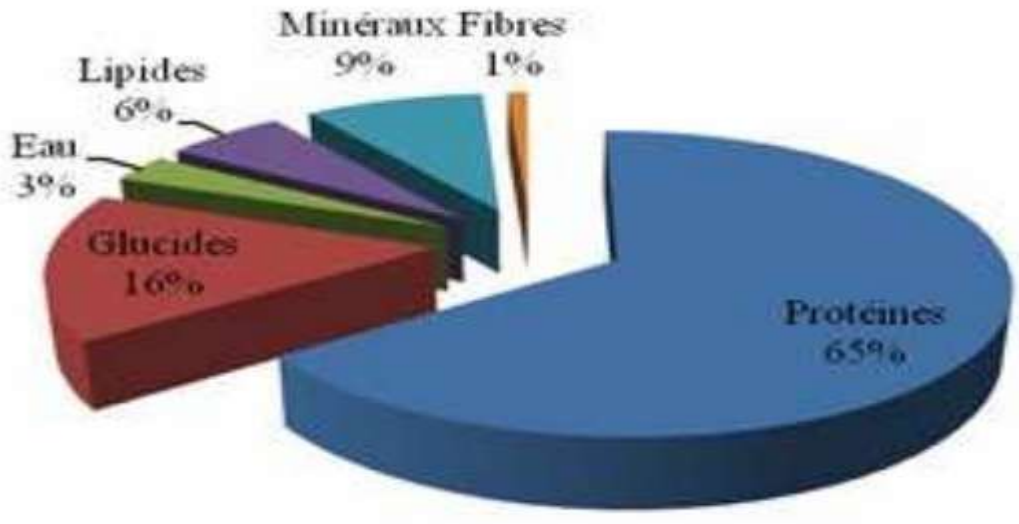


Figure I.3 : Composants nutritionnels de la spiruline [24]

G-Pigments

La spiruline est riche en pigments responsables de sa couleur. Les principaux pigments sont la phycocyanine et la chlorophylle. La phycocyanine est une phycobiliprotéine. Seul colorant bleu alimentaire naturel, elle est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue [29] [30].

La chlorophylle est présente en proportion de 9-15 g/kg [31].

Les phycocyanines, composants de l'appareil photosynthétique des cyanobactéries, sont les protéines majeures de la spiruline. Naturellement colorées d'un bleu intense et pourvue d'une fluorescence rouge, elles sont responsables du bleuissement de la poudre de spiruline exposée trop longtemps à la lumière : moins sensible que la chlorophylle à la photo-destruction, leur couleur domine lorsque le vert chlorophyllien disparaît. C'est aussi aux phycocyanines que l'on doit l'intense couleur bleue qui apparaît plus ou moins rapidement lorsque l'on réhydrate de la spiruline séchée : l'éclatement des cellules libère ces protéines très solubles dans l'eau, alors que la chlorophylle reste associée aux débris cellulaires [31].

Les phycocyanines ont donné lieu à de nombreuses recherches scientifiques, détaillées plus loin, démontrant l'incroyable potentiel thérapeutique de ces protéines [31].

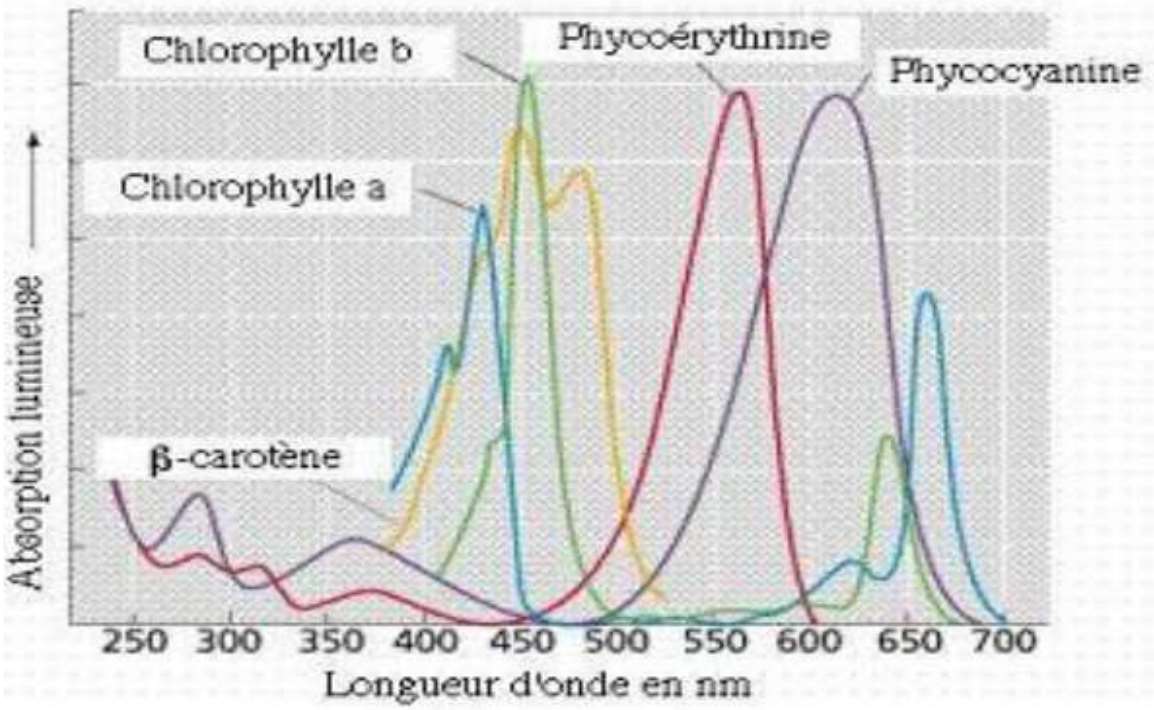


Figure I.4: Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse [32]

I .2.1.6. Les souches d'*arthrospira platensis :*

Le terme Spiruline correspond au nom commercial d'une espèce de cyanobactérie alimentaire appartenant toujours au genre *Arthrospira*. Le mot *Spirulina* est le nom commercial anglophone de la spiruline, mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné de *Arthrospira*, et surtout non comestible (par exemple : *Spirulina major*, *Spirulina subtilissima*, *Spirulina princeps*, *Spirulina giganteaou Spirulina subsalsa*)[32].

L'analyse des caractéristiques génétiques de l'espèce Arthrospira effectuées par Scheldeman et al en 1999, basées sur l'ARDA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis).

Arthrospira platensis montre une grande plasticité dans la morphologie. Ceci est attribué aux facteurs exogènes comme la température et d'autres facteurs physiques et chimiques et probablement aussi en raison du changement génétique [33]

En ce qui concerne les différentes souches (ou variétés) d'*Arthrospira platensis*, on distingue les souches "spiralées", "ondulées", et "droites" (Fig**. I-5**):

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

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

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

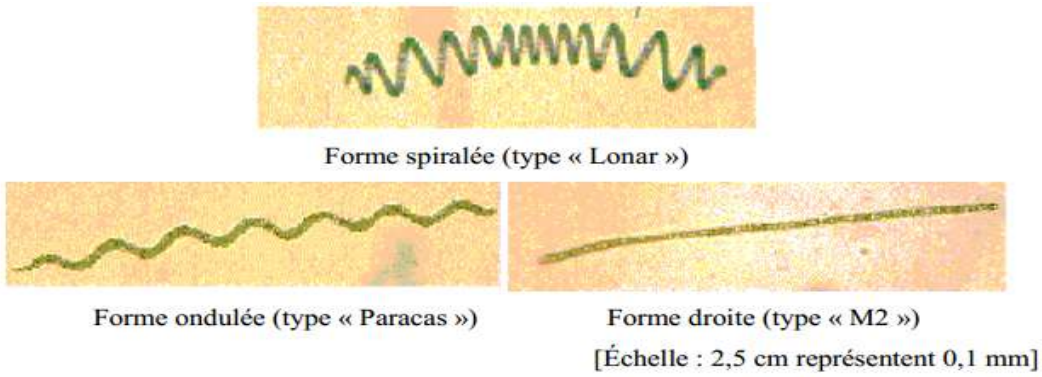


Figure I-5: Différentes d'*Arthrospira platensis* (source: Antenna Technologie modifié) [34].

Sachant que certaines souches initialement spiralées peuvent devenir ondulées ou droites, la question du nombre de variétés de spiruline fait encore débat entre les scientifiques : leur existence est-elle liée à une mutation irréversible de l'une des deux espèces ou à une adaptation transitoire à des conditions de vie différentes espèces dérivent plusieurs souches [23].

I .2.2.étude écologique :

Ce qui distingue le genre *Arthrospira* des autres cyanobactéries, c'est le milieu naturel où elles vivent. En effet, la Spiruline est un organisme ubiquiste et est thermophile, elle a été trouvée dans des milieux ayant une concentration de 8,5 à 270 grammes de sel par litre [35], qui sont riches en carbonate de sodium (Na2CO3), bicarbonate de sodium (NaHCO3), divers minéraux et des source d'azote fixé.

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes tropicales du monde entier, principalement, dans les lacs alcalins d'Afrique autour du Tchad (*Arthrospira platensis*) et d'Amérique dans la vallée de Texcoco au Mexique (Arthrospira geitleri ou *Arthrospira maxima*)[34].

Elle a des conditions environnementales très contraignantes qui excluent la plupart des autres êtres vivants. De plus, le développement des spirulines dans ces milieux contribue encore à renforcer l'effet d'exclusion, par trois phénomènes [36][32] :

* en consommant les carbonates et bicarbonates de son milieu, la spiruline tend à augmenter l'alcalinité de celui-ci ;

* ses filaments pigmentés et flottants forment un écran qui prive de lumière solaire les rares algues qui pourraient s'accommoder du milieu de culture (exemple de la chlorelle, micro-algue comestible pouvant proliférer dans des cultures de spirulines trop peu concentrées) ;

* en sécrétant des molécules qui s'avèrent actives contre une vaste gamme de bactéries.

I -2-2.distribution géographique :

La spiruline croît naturellement dans la ceinture tropicale du globe, entre 35°N et 35°S environ. Elle se trouve communément dans des eaux saumâtres, ainsi que dans des lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales [37] à pH fortement alcalin. Selon son origine, elle

arbore plusieurs différences interspécifiques. Ci-dessous quelques sites où la spiruline a été découverte (Annexe 02) [7].

Comme le montre tableau ci-dessus, la spiruline peut même pousser dans des lacs volcaniques (lac Quiliotoa, en Equateur). Plus généralement, elle croît dans des eaux chaudes, très minéralisées riches en carbonate de sodium (Na 2CO3) ou bicarbonate de sodium (NaHCO3), d'autres minéraux et une source d'azote fixé. C'est pourquoi on peut en trouver aussi dans certains déserts, à l'endroit de ramassage de l'eau provenant occasionnellement des montagnes. Ces conditions de développement excluent la prolifération de la plupart des autres microorganismes[7].

C'est d'abord l'impressionnante teneur en protéines des spirulines qui a attiré l'attention des chercheurs, comme des industriels. Puis c'est au cours d'analyses approfondies sur les spirulines que beaucoup de points particulièrement intéressants sur le plan nutritionnel sont apparus : composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, de nombreux minéraux et vitamines. Afin de mettre en évidence les propriétés nutritionnelles d'*Arthrospira platensis*, il est nécessaire d'étudier sa composition puis de la comparer aux apports nutritionnels conseillés (ANC) [7].

I.3. Culture de la spiruline :

I.3.1. Conditions de culture

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

I.3.1.1. Température

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

La température optimale de croissance de la spiruline, est situe dans l'intervalle 35-38°C, tandis que la le minimum est situe de 15-20°C [25] [38] [39] [40] [41].

I.3.1.2.la lumière

La lumière est la source d'énergie primaire des organismes réalisant la photosynthèse. Celle-ci est indispensable. Pour les microalgues les durées et les périodes d'ensoleillement seront déterminantes. La spiruline possède un optimum d'irradiance, au delà, un excès de lumière peut être nuisible. A partir d'un certain seuil, il y aura photoinhibition et destruction des cellules par la lumière [42].

I.3.1.3.Le pH

La culture de la spiruline le pH sera entre 8.5 et 10.5 [42], naturellement, la spiruline a tendance à alcaliniser le milieu. En effet le CO_2 dissous dans l'eau, une fois mobilisé par la spiruline, libèrent des ions carbonates ($CO3^{2-}$) qui en s'hydrolysant vont libérer des ions OH^-[43].

I.3.1.4.La salinité

La salinité est un facteur limitant dans la culture de la spiruline. Sa variation et le dépassement des limites de concentration permises peuvent générer des accidents dans la culture ; particulièrement le métabolisme des bactéries (arrêt de la croissance ; modifications des valeurs des éléments composants de la spiruline..).L'agitation du milieu de culture ainsi que l'évaporation pouvant être causée par la température de l'eau, sont des sources potentielles d'augmentation de la salinité [44].

I.3.2. Milieu de culture

Généralement, le milieu utilisé est basé sur le milieu original de Zarouk (1966) et qui est typiquement composé d'eau, le carbonate/bicarbonate de sodium, une source d'azote, le phosphore, le fer et d'autres minéraux de trace [25].

I .3.2.1. L'eau

L'un des paramètres les plus importants pour une culture de spiruline, est la qualité de l'eau utilisée, de façon de leur composition chimique.

Les limites de salinité d'eau, est généralement assez larges, mais on se place souvent vers les minima, cela pour des raisons d'économie et de productivité, avec une salinité totale de 13 g/l [42], avec zone optimale de développement qui se situe entre 22 et 62 [35].

Vonshak (1997) a démontré que la Spiruline exposée à haute concentration en NaCl non seulement entre immédiatement en cessation de croissance, mais sa biomasse diminue pendant au moins 24 h après cette exposition, car l'activité photosynthétique de la Spiruline diminue sous le stress de la salinité, même si elle croît continuellement dans l'environnement salin et s'adapte à ce milieu. Cette diminution est associée à une modification de la demande cellulaire en énergie lumineuse, c'est à dire qu'elle a besoin de moins de lumière pour saturer la photosynthèse [38].

I .3.2.1.les éléments nutritive

L'eau utilisé peut apporter de façon naturelle les besoins de la spiruline pour se développer et limite ainsi la quantité d'intrants nécessaire à sa croissance. Le milieu de culture de la spiruline doit être apporté tous les éléments suivants [42]:

* bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$): est la source d'alcalinité, qui peut aussi apporté par le natron ou l'eau de cendre

* le phosphore (P): est indispensable pour la photosynthèse, apporté par n'importe quel Orthophosphte soluble.

* l'azote : est un constituant important des acides aminés, qui apporté principalement par l'azote atmosphérique, et aussi l'urée.

* le carbone(C) : c'est la nourriture principale de la spiruline, qui apporté principalement par le gaze carbonique, et aussi le sucre.

* les métaux : essentiellement le fer, le bore et le magnésium… .

I.4. Intérêt et utilisation:

I.4.1. Intérêt

La Spiruline a été commercialisée et étudié en raison de son propriété nutritionnelle et thérapeutique pour le traitement de certaines maladies telles que le cancer (Mathew et al., 1995; Zhang et al, 200; Guan and Guo, 2002), les allergies (Kim et al., 1998; Mao et al., 2005) , anémies (Hayakawa, 1996; Simpore et al., 2005), hépatotoxicités (Vadiraja et al., 1998; Gorban et al., 2000), maladies virales (Ayehunie et al., 1998; Lee et al., 2001; Hernández-Corona et al., 2002), cardiovasculaires (ParedesCarbajal et al., 1997; Samuels et al.,2002; Park et al., 2008), diabète (RodríguezHernández et

al., 2001; Huang et al., 2005), immunodéficience (Mao et al., 2000, Lobner et al., 2008), et inflammations (Remirez et al., 2002; Shih et al., 2009) .

Certains composés présents dans la spiruline, tels que les composés phénoliques, phycocyanine, tocophérol et peuvent avoir une activité anti-oxydante (Wu et al., 2005; Patel et al., 2006; Guan et al., 2009) .

I.4.2. Utilisation

Aujourd'hui, la spiruline a été commercialisée et consommée comme aliment humain et a été approuvé comme aliment pour la consommation humaine par de nombreux gouvernements, organisations de santé et les associations de ces pays:

Argentine, Australie, Autriche, Bahreïn, Bahamas, Bangladesh, Bélarus, Belgique, Brésil, Bulgarie, Canada, Tchad, Chili, Chine, Colombie, Costa Rica, Croatie, République tchèque, Danemark, Égypte, Équateur, Éthiopie, Finlande, France, Allemagne, Grèce, Guam, les États du Golfe Haïti, Hongrie, Inde, Islande, Indonésie, Irlande, Israël, Italie, Jamaïque, Japon, Kenya, Corée, Koweït, Liechtenstein, Luxembourg, Macédoine, Malaisie, Mexique, Myanmar, Monaco, Pays-Bas, Nouvelle-Zélande, Nigéria, Norvège, Pérou, Philippines, Pologne, Portugal, Roumanie , la Russie, l'Arabie saoudite, Serbie, Singapour, Slovénie, Afrique du Sud, Espagne, Suède, Suisse, Taiwan, Thaïlande, Togo, Turquie, Ukraine, Royaume-Uni, États-Unis, Venezuela, Vietnam, Zaïre, Zimbabwe[12][38].

La spiruline est utilisée [45]:

* Pour la santé, une alimentation équilibrée, et pour renforcer le système immunitaire.

* Dans l'agroalimentaire, comme colorant naturel dans les chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées comme la menthe.

* En cosmétique dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus.

* A usage animal, complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture pour favoriser la croissance et la fertilité, et augmenter les performances des animaux .

I.5. Toxicologie :

La Spiruline n’est pas toxique car elle n’a pas les gènes qui assurent la synthèse des toxines de cyanobactéries. Par contre, de nombreuses autres cyanobactéries sont toxiques mais le milieu très alcalin dans lequel pousse la Spiruline, Le haut pH et de l'alcalinité du milieu de culture inhibe la croissance d'organismes potentiellement contaminants, et ne leur permet pas de se développer ce qui entraîne une monoculture virtuel de Arthrospira platensis, ainsi qu’aucun cas avéré d’intoxication par la Spiruline n’a été rapporté [33][45].

Des tests d'alimentation indépendants en France, le Mexique et le Japon n'ont pas montré de des résultats inattendus et aucun cas avéré d’intoxication par la Spiruline n’a été rapporté sur les humains, les rats, les porcs, les poulets, les poissons et les huîtres.

Malgré ce micro-organisme en termes généraux ne dépassent pas les limites de concentration en métaux recommandées par les organismes internationaux. Mais en raison de l'utilisation d'engrais et possibilité de pollution de l'eau, contrôle de la qualité optimale de l'environnement et de suivis périodiques de cette culture des cyanobactéries est nécessaire pour détecter les concentrations élevées de métaux [46].

Chapitre II : les micro-algues et Méthodes de cultures en masse

II. micro-algues

II .1.Généralités sur les microorganismes photosynthétiques

Les microorganismes photosynthétiques sont des organismes unicellulaires, croissant en milieu aqueux et ayant la capacité de convertir l'énergie lumineuse par la photosynthèse. Ce sont des organismes photo-autotrophes, i.e. ils utilisent une source de carbone inorganique et une source de lumière pour se développer. Ils proviennent d'un groupe polyphylétique (non issu d'un ancêtre commun direct). Ce groupe comprend les bactéries photosynthétiques et les micro-algues[47].

Alors que les micro-algues sont des organismes eucaryotes, les bactéries photosynthétiques sont des organismes procaryotes, ne possédant pas de noyau ni d'autres organites compartimentés. On en distingue trois familles : les cyanobactéries, les Chlorobactéries et les rhodobactéries [47].

II .1.1.Croissance de spiruline :

Grâce à ses pigments chlorophylliens, la spiruline est une espèce photoautolitotrophe aérobie. Elle est dotée des photosystèmes I et II [48]. Chez la spiruline, la **photosynthèse** constituant la clé de sa croissance. Il paraît utile de faire quelques rappels concernant ce processus, Sous l'action de la lumière. Un organisme photosynthétique peut élaborer de la matière organique indispensable à son développement : il le fait à partir d'éléments minéraux, en absorbant le gaz carbonique et l'eau, et en rejetant de l'oxygène. 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_2 atmosphérique) et la convertit en énergie biochimiquement utilisable représentée par le glucose. L'énergie lumineuse est captée par des pigments assimilateurs représentés par les chlorophylles. La chlorophylle de la spiruline se situe dans les régions spécialisées de leur membrane cellulaire : les phycobilisomes des thylakoïdes.

La photosynthèse est divisée en deux phases : une série de réactions dites ***"Lumineuses"*** et une série de réactions dites ***"obscures"*** [49] :

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. Ils sont toujours placés à proximité l'un de l'autre [50].

Le PS I possède une plus grande variété de pigments que le PS II qui est plus riche en

chlorophylle de type a P680. C'est à son niveau que se produit la photolyse de l'eau, c'est-à-dire qu'il récupère les électrons libérés par les molécules d'eau.

La phycocyanine, pigment spécifique aux cyanobactéries, est essentielle au transport de l'énergie vers le PS II [51].

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-Tri-Phosphate), molécule dont la consommation libère beaucoup d'énergie, et de NADP (Nicotinamide Adénine Di-nucléotide Phosphate) [52].

$$12\ H_2O + 12\ NADP + 12(ADP+P) \rightarrow 6\ O_2 + 12(NADPH+H^{+)} + 12\ ATP$$

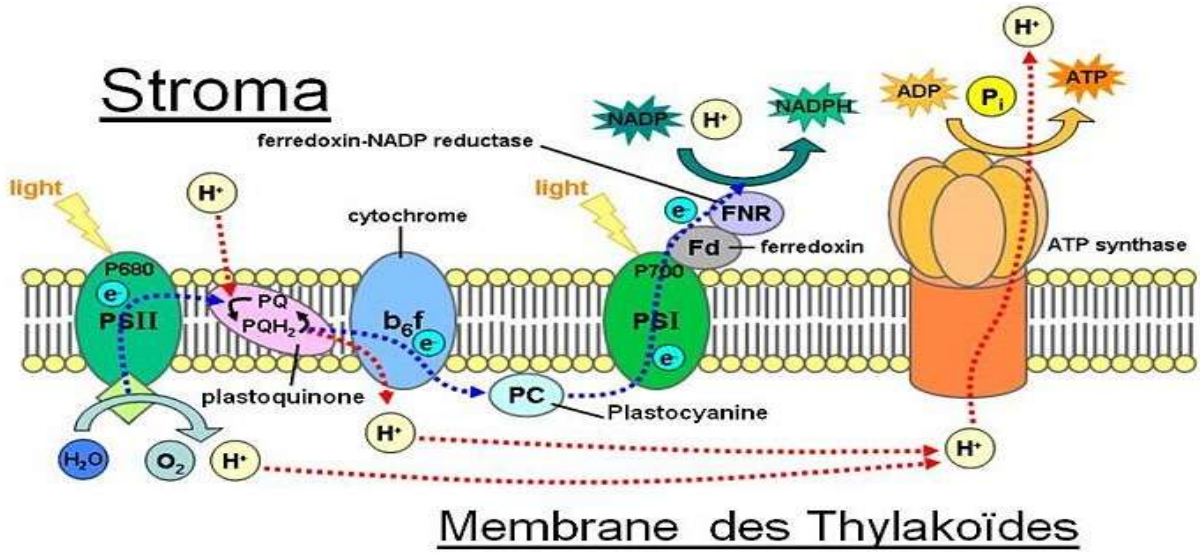


Figure II- 1. Les étapes membranaires du processus de photosynthèse se déroulant chez les plantes vertes, les algues et les cyanobactéries [53].

Les **réactions obscures** ont lieu dans le stroma (matrice) du thylakoïde, où l'énergie produite lors de la phase lumineuse y est stockée sous forme d'ATP et de NADP réduit. Cette énergie est utilisée pour la synthèse de molécules organiques, par réduction du dioxyde de carbone.Cette phase est dite obscure car elle correspond à une série de réactions qui ne nécessitent pas de lumière ; ce n'est pas pour autant qu'elles se déroulent la nuit. Au contraire. Ces réactions forment le cycle de Calvin, à l'issue duquel, une molécule de glucose est synthétisée [54].

$$18\ ATP + 12(NADPH + H^{+}) + 6CO_2 \rightarrow 18ADP + P + 12NADP + 6H_2O + C_6H_{12}O_6$$

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

$6\,CO_2 + 6\,H_2O + (\text{énergie lumineuse}) \text{--------} > C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$

La nuit, c'est la **respiration** qui permet à la spiruline de produire l'énergie nécessaire à son entretien et à sa croissance. Les hydrates de carbone produits pendant le jour, subissent une oxydation qui les convertit en protéines, avec en parallèle une formation de CO_2 (lequel reste dissous dans le milieu de culture) et d' H_2O [57].

Puis, avec le retour de la lumière du jour, le CO_2 participera à un nouveau cycle de photosynthèse.

Comme le montre la figure 6, la photosynthèse et la respiration s'équilibrent globalement.

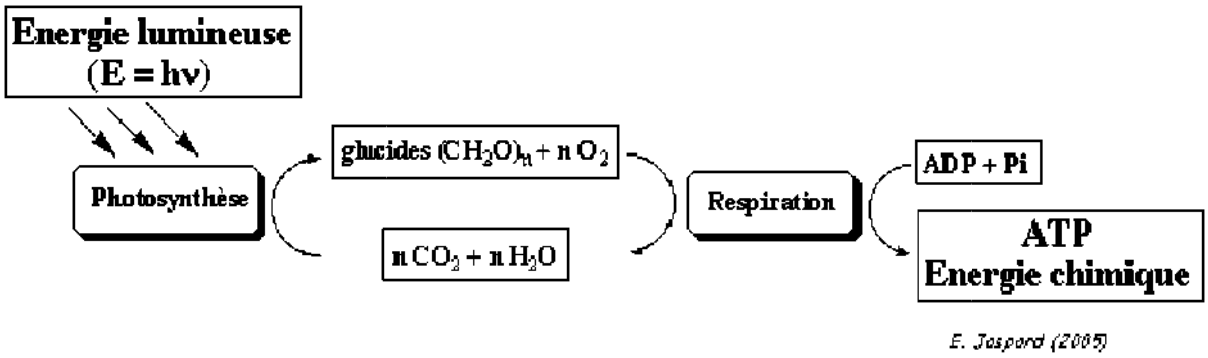


Figure II- 2. Représentation de l'équilibre entre les réactions de photosynthèse et de respiration, chez les organismes photosynthétiques [54]

II .2 .Rendement photosynthétique des micro-algues

Le choix des micro-algues pour faire de la biomasse est basé sur plusieurs critères, dont le rendement photosynthétique. En effet, 1 g de biomasse algale produit environ 1 g de glucides par hectare, soit, pour l'ensemble de la végétation terrestre, un gain annuel d'environ 73 milliards de tonnes de carbone, ce qui équivaut à vingt fois la production mondiale de charbon, par contre les micro-algues sont d'une plus grande efficacité photosynthétique soit 10 à 100 fois plus que les plantes[56].

L'utilisation des micro-algues pour la production de biomasse nécessite à la fois une culture intensive d'algues et une maitrise des conditions de culture pour garantir un rendement en biomasse optimum et une production de lipide suffisamment élevée [56].

II.2. Méthodes de cultures en masse :

Toutes les espèces d'algues ne sont pas encore cultivables. Certaines macro-algues sont donc encore prélevées en mer ou sur l'estran, à partir de gisements naturels. D'autres sont cultivées dans des « champs marins », comme les algues brunes *Laminaria japonica* (4,9 millions de tonnes / an) et *Undaria pinnatifida* (2,7 millions de tonnes / an). [57]

II.2.1. Bassins ouverts :

Les micro-algues peuvent être cultivées en masse dans des bassins ouverts (lacs, lagunes, bassins naturels ou structures artificiels, comme les bassins de type « raceway») ou dans des photobioréacteurs fermés. [58]



Figure II.3.: Modèle de bassin de production de spiruline

Certaines macro-algues sont également cultivées en bassin de type « raceway» avec une agitation mécanique (*Chondrus crispus*), ou par bullage intense basse pression (*Gracilaria*, *Palmaria*).

Les avantages majeurs des **bassins ouverts** restent leur facilité de construction et le fait qu'ils soient rapidement opérationnels et productifs. Mais les cultures y sont difficilement contrôlables, dépendant de la concentration atmosphérique en CO_2 et de la luminosité naturelle, manquant de brassage du volume de culture, elles n'ont pas une productivité sur de longues périodes et peuvent facilement être contaminées par des parasites ou prédateurs extérieurs [57].



Figure II.4. : Un bassin en tissu polyamide enduit PVC Eco Park, Madurai, Tamil Nadu (Inde) 18 m², 1998

Tableau .II.1: présente une suite d'exemples d'algoculture expérimentale tirés de la littérature scientifique. [62][63].

Profondeur bassin (cm)	Algue	Productivité maximum (g/l/jour)
13-15	*Spirulina platensis*	0.18
1	*Chlorella sp.*	2.5

II.2. Photo-bioréacteurs :

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

Un photo-bioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de micro-algues, de CO2 et de lumière. La notion de photo-bioréacteur date déjà de quelques décennies. Les premiers systèmes clos sont apparus à la fin des années 40, mais faute de moyens techniques leur développement a été interrompu et les cultures ont continué à être réalisées en bassins rudimentaires. Dans les années 80, les recherches ont repris activement et de nombreux photo-bioréacteurs ont été réalisés et expérimentés avec des formes géométriques diverses.

À l'inverse, les photo-bioréacteurs sont plus chers à construire et plus complexes à mettre en place, mais assurent un meilleur contrôle de la culture et une production plus durable dans le temps. Il en existe trois grands types [59].

II. 2.2.Les photo-bioréacteurs à colonne verticale :

Faciles à stériliser, ils permettent une biomasse importante. Mais leur réalisation nécessite un matériel sophistiqué et la répartition de la lumière est plutôt hétérogène à l'intérieur de la colonne [60].



Figure II.5. : Photo-bioréacteurs de type colonne à bulles (Scobalit) utilisés classiquement en écloserie [59].

II. 2.3.Les photo-bioréacteurs tubulaires :

Faciles à réaliser, utilisables à l'extérieur, ils forment un réseau de tubes horizontaux, verticaux, obliques, coniques ou encore serpentins. [58] Ils assurent une bonne production de biomasse à moindre coût. Cependant, des gradients de pH, de CO2 et d'O2 dissous peuvent apparaître dans les tubes, ainsi que des phénomènes de fouling, affectant la productivité du système [61].



Figure II.6. : Photobioréacteur tubulaire pour la culture de *Spirulina spp.* en extérieur utilisant une surface réfléchissante (Tredici et Materassi 1992) [59].

II. 2.4.Les photo-bioréacteurs plats :

Ils ont été introduits par Milner en 1953. [58] Ils assurent une bonne pénétration de la lumière et une production importante de la biomasse et un fort rendement photosynthétique [63]. Sont faciles à nettoyer et à tempérer pour les cultures et peuvent être installés à l'extérieur. L'accumulation de dioxygène dissous est relativement faible dans les photo-bioréacteurs plats par rapport aux photo-bioréacteurs tubulaires horizontaux. Mais ils créent des différences de température difficile à gérer et peuvent induire des stress hydrodynamiques chez certaines espèces d'algues [58].

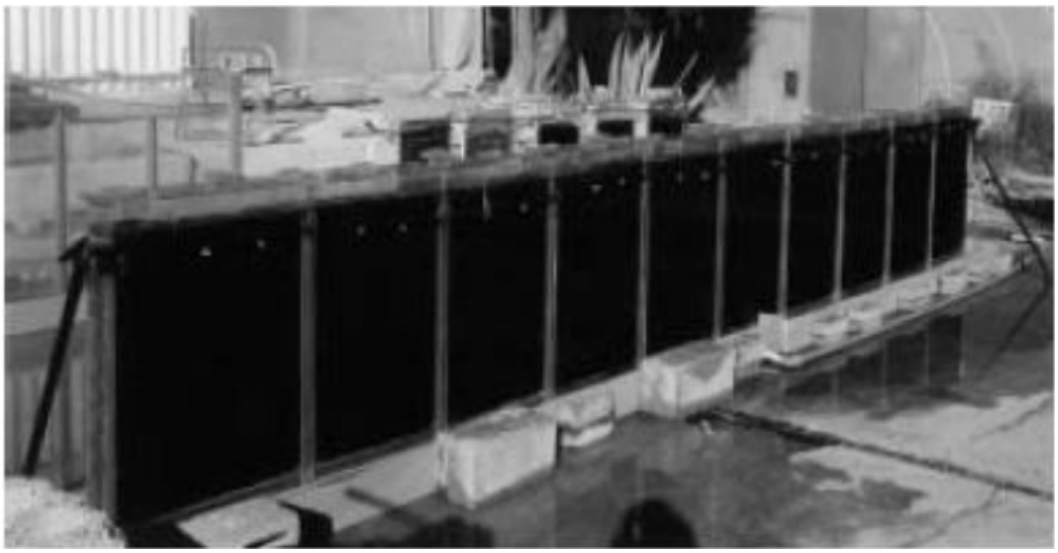


Figure II.7.: Photobioréacteurs plats : photobioréacteur de 500 L construit au laboratoire de l'Institut Jacob Blaustein pour le projet "Desert Research" (Richmond 2000) [59].

Il faut également noter que pour résoudre les problèmes d'irradiantes lumineuse dans la culture en photo-bioréacteur, des systèmes illuminés à l'intérieur du volume de culture par des lampes à fluorescence ont été proposés [64]. Ces systèmes présentent l'avantage de pouvoir être stérilisés à chaud et sous pression, mais restent difficiles à mettre en œuvre dans un environnement extérieur [58].

Tableau. II.2. : présente une suite d'exemples d'algoculture expérimentale tirés de la littérature scientifique [64] [65] [66] [67] [68] [69] [70] :

Bioréacteur	**Orientation**	**Algue**	**Productivité maximum (g/l/jour)**
Tubulaire	horizontal	Spirulina maxima	0,25
Tubulaire	horizontal	*Spirulina platensis*	1,6
Tubulaire	incliné	*Chlorella pyrenoidosa*	3,64
Colonne	verticale	*Phaeodactylum sp.*	0,69
Colonne	verticale	*Isochrysis galbana*	1,6
Plat	incliné	*Spirulina platensis*	4,3

II.2.5.La lumière et le photo-bioréacteur

La particularité d'un photo-bioréacteur tient, en plus des besoins habituels communs à tous les bioréacteurs, à la nécessité de fournir une énergie photonique aux microorganismes à cultiver (ici les micro-algues), cet apport étant incontournable pour la réalisation de la photosynthèse [59].

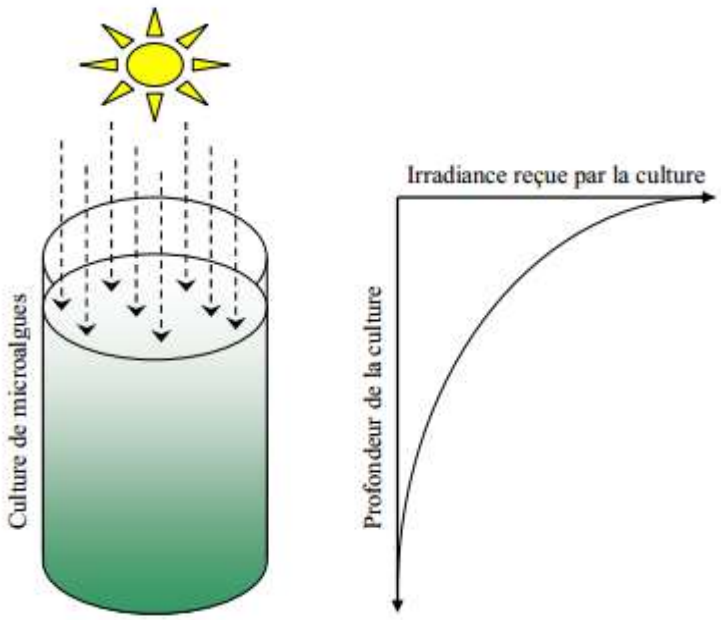


Figure II.8. : Représentation schématique de l'atténuation de la lumière en fonction de l'épaisseur de culture de micro-algues [59].

D'un point de vue technologique, l'enceinte du système doit donc être transparente et être conçue de façon à fournir une intensité lumineuse suffisante, mais non létale, pour les micro-algues [59]

II.2.5.Caractéristiques des principaux types de photo-bioréacteurs

II- 2.5.1.Eclairage

L'éclairage des photo-bioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire : les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiante solaire [71][72]. Une variante consiste, pour certains photo-bioréacteurs cylindriques, à placer les photo-bioréacteurs sur des surfaces réfléchissantes afin d'accroître, par réflexion, l'incidence du rayonnement [19]. D'autres moyens ont aussi été expérimentés, utilisant la lumière naturelle [73] aussi bien que celle artificielle au sein des photo-bioréacteurs plat (2002) ou cylindrique [74] : ils utilisent un harnais de fibres optiques (ou réseau de gaines transparentes) disposé au centre de la chambre du réacteur. Ce système de conduction lumineuse accentue la diffusion de la lumière au cœur du milieu de culture [75]. A l'intérieur, les photo-bioréacteurs peuvent être placés sous serre, mais souvent des sources lumineuses artificielles sont utilisées, telles que des tubes fluorescents (de type : « cool white » ou lumière du jour).

Placés verticalement ou horizontalement, ils sont souvent agencés sous forme de murs de tubes horizontaux ou verticaux (Applied Photosynthetics Ltd. www.campusventure.co.uk/apl; Tredici 1999) [76].

II- 2.5.2.Dimensions des photo-bioréacteurs

Les photo-bioréacteurs plats sont généralement des réacteurs de petits volumes pour un usage en laboratoire [73]. Ces photo-bioréacteurs plats ont des dimensions variables car le nombre des panneaux qui les composent peut être démultiplié [77] comme celui de 500 L constitué de plusieurs unités. L'épaisseur de la culture, au sein de chacun des panneaux, peut varier de 1 cm à 17 cm [73]. Néanmoins, il est rare que la surface de chacun des panneaux excède un mètre carré (ex: photo-bioréacteur plat alvéolaire 100 x 170 cm [78].car au-delà la pression exercée par le milieu de culture peut courber les parois (contraintes mécaniques). Les volumes importants peuvent être composés d'unités de culture rangées verticalement et connectées entre elles par un réseau de conduites équipé de pompes [77]. Par exemple, il existe un photo-bioréacteur plat composé de 42 unités, d'un volume de 6 m3 compacté sur une surface de 100 m² (avec un rapport surface sur volume de 60 m-1) [79], et dont les unités sont commercialisées par la société B. Braun Biotech Int [77]. Les photo-bioréacteurs cylindriques d'étude utilisés en laboratoire ont un volume de l'ordre de quelques litres [80] mais peuvent atteindre facilement quelques dizaines de litres , voire des volumes plus importants. En production industrielle (usages aquacole ou agroalimentaire), les photo-bioréacteurs cylindriques ont des volumes qui oscillent entre quelques centaines de litres, en intérieur www, et quelques milliers de litres en extérieur, pour obtenir des volumes importants, la connexion de plusieurs unités de photo-bioréacteurs cylindriques entre elles

reste la méthode la plus efficace [59]. .

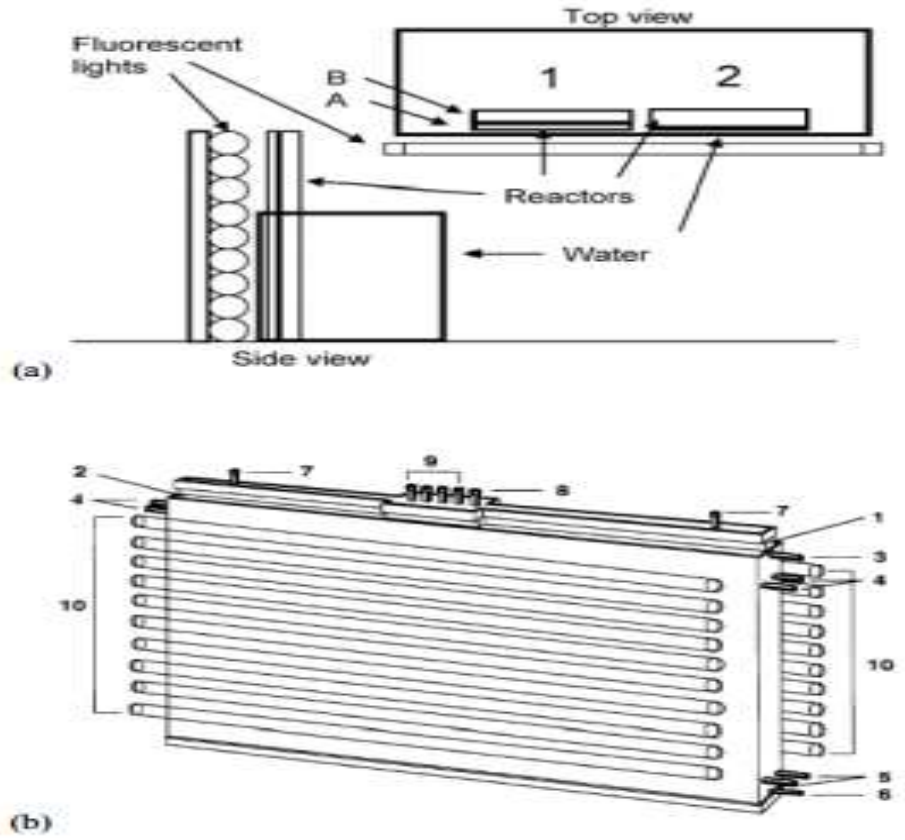


Figure II.9. : Système de régulation thermique: photo-bioréacteur plat à compartiments de culture et de circulation d'eau (a) et schéma d'un photo-bioréacteur plat équipé de: 1 chambre interne de culture; 2 chambre de régulation externe de température; 3 récolte; 4 entrée et 5 sortie d'eau de refroidissement; 6 port d'entrée des tubes d'air; 7 sortie d'air; 8 port de prélèvement; 9 ports des sondes pH, température, O2 etc.; 10 mur de tubes fluorescents (b) (Hu *et al.* 1998b) [34].

II. 2.6.Régulation

Tout comme en bioréacteur, un suivi et un contrôle de grandeurs caractérisant la croissance est nécessaire telles que le dégagement d'oxygène, la consommation de dioxyde de carbone, l'augmentation du pH… Une régulation est mise en place afin d'assurer une optimisation des cultures. Le minimum requis pour un photo-bioréacteur industriel est le contrôle des conditions de culture à savoir le pH et la température. En laboratoire la régulation peut s'avérer plus poussée et des périphériques sont alors ajoutés pour permettre un suivi expérimental [59].

II.2 .6.1.Contrôle du pH

Le réajustement et la régulation du pH de la culture sont majoritairement obtenus à l'aide de CO2 distribué conjointement à de l'air ou bien séparément, quel que soit le système d'agitation. A noter que l'aération et le mélange du milieu de culture en scobalits (photo-bioréacteur à colonne) s'effectuent par un bullage simple d'air enrichi entre 2 et 5% de CO2 [59].

II.2.6.2.Contrôle de la température

Les moyens de contrôle et systèmes de régulation de la température des photo-bioréacteurs en extérieur comme en intérieur sont variés : ils peuvent être entourés d'une enveloppe d'eau froide placée à la base du procédé où la régulation thermique pour les photo-bioréacteurs plat est réalisée par une circulation d'eau dans des compartiments adjacents aux panneaux de la chambre de culture. Une variante de ce système est l'utilisation de tubes à écoulement d'eau placés au sein même de la culture . Plus particulièrement, à l'extérieur, des jets d'eau permettent le contrôle de la température par évaporation. La régulation thermique peut se faire également en immergeant le photo-bioréacteur dans un bassin rempli d'eau, ou encore en aménageant autour de lui un système d'ombrage [59].

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III. Matériels et méthodes

III.1. Matériels biologique

Origine de la a souche Spiruline : Le prélèvement de la souche mère de spiruline a été effectué dans la région de Tamanrasset au niveau de la Guelta du Palmier situé à 1824 m d'altitude (23°N., 5°E.) dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination, le transport des échantillons étant assuré d'une manière à éviter tout contact avec l'air extérieur dans des récipients stériles et à basse température (glacières). [81].

III .2. Appareillage :

Au cours de notre travail on a eu recours à l'utilisation différent matériels et appareillages de laboratoire présentés ci-dessous :

Autoclave: WOLF SANOCLAVE 73337 Bad UBERKINGEN Houssen

Balance: DENVER M<X

Ph mètre: WOONSOCKET, RI 02895

Spectrophotomètre UV-visible-1240.SHIMADZU.

Agitateur

Verreries

Luxmètre EXTECH EA31.

Pompe d'aération

Lampes

III.2.1.Le milieu de culture :

Le milieu utilisé est basé sur le milieu original de Zarrouk (1966) et qui est typiquement composé d'eau, le carbonate/bicarbonate de sodium, une source d'azote, le phosphore, le fer et d'autres minéraux de trace[82] . L'eau utilisé peut apporter de façon naturelle les besoins de la spiruline pour se développer et limite ainsi la quantité d'intrants nécessaire à sa croissance.

Le milieu de culture de la spiruline doit apporté tous les éléments suivants [83]:

* bicarbonate de sodium (NaHCO3): est la source d'alcalinité, qui peut aussi apporté par le natron ou l'eau de cendre .

* le phosphore (P): est indispensable pour la photosynthèse, apporté par n'importe quel Ortho phosphate soluble.

* l'azote : est un constituant important des acides aminés, qui apporté principalement par l'azote minérale NaNO3 atmosphérique, et aussi l'urée.

* le carbone(C) : c'est la nourriture principale de la spiruline, qui apporté principalement par le gaze carbonique.

* les métaux : essentiellement le fer, le bore et le magnésium…

Tableau III -1: composition de milieu Zarrouk [84].

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

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

Tableau II.-2composition de la solution A_5 (g /l) [84].

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

Tableau III .3 : composition de la solution B_6 (en mg/l) [84].

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

Ce milieu présente l'intérêt de s'adapter à presque toutes les souches de spiruline et simplifie considérablement le travail de l'algoculteur. Toutefois, ses constituants sont chers et ne sont pas toujours faciles à trouver. Plusieurs alternatives offrent des rendements satisfaisants ; nous ne pourrons pas les détailler tous, mais il faut savoir qu'on peut utiliser la lessive de cendres de bois ou encore le bicarbonate naturel (natron) additionnés d'urine ou de nitrate de Chili comme milieu de culture. Le milieu Zarrouk préparé est stérilisé à l'autoclave à 120 ^{0}C pendant 20 min [84].

III.2.2. Conception de photo-bioréacteur [81]. **:**

Le PBR réalise est de forme conique, le choix de cette forme est basé sur les avantage porté, tel que la ponté d'inclinaison permet une pénétration de la lumière perpendiculaire et la forme circulaire laisse la surface de PBR éclaire à 100% durant les expériences

La surface et de volume des différents volumes de photo-bioréacteur conique sont calculé par les formules mathématiques suivantes :

PBR conique : $S=\pi\times (D_1+r_2) \times (H/2)$ ……. (1)

$V=1/3\pi \times (D^2_1+r^2_2+D_1 \times r_2) \times H$ …….. (2)

Tel que : **h** : la hauteur de PBR ; **d :** la potence du cône

D_1 : le petit diamètre de PBR conique r_1 : le petit rayon de PBR conique

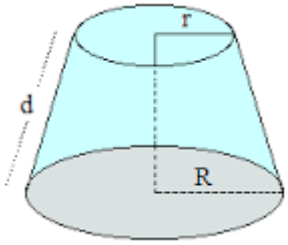


Figure III-1: Schéma d'un cône traqué

III.3.Procédés expérimentales :

III.3.1. Conditions de culture [86]**:**

Le travail de ce thème est réalisé au laboratoire de Hall Technologie de Médéa, maintenues dans des conditions d'éclairement, de température et de débit d'air identiques. Un éclairage permanent est assuré à l'aide d'une lumière blanche par 2 tubes fluorescents de marque Torche et d'une intensité lumineuse de 1400 lux. L'ajustement de l'intensité lumineuse est effectué à l'aide de luxmètre. Pour assimiler les conditions d'éclairage naturel, on a en 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 à la souche. Plus la spiruline reçoit de la lumière plus sa croissance est rapide, il faut savoir également qu'une forte intensité conduit a une photolyse, qui se manifeste par un éclatement des cellules. La température est maintenue à une valeur optimale de (34±1°C) à l'aide de thermostats réglables. L'agitation des cultures est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air et par agitateurs magnétiques [86].

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 [86]**.**



Figure III.2 schémas de pH et de salinité sur la croissance de spiruline



Figure III.3 schémas de PBR conique sur la croissance de spiruline

III .3.2. Préparation de pré-culture de spiruline [86]:

Ensemencement dans un site dépourvu de la spiruline, ou pour redémarrer avec une nouvelle souche, il doit démarrer avec un gramme de spiruline concentré dans un volume de culture , si on veut travailler avec un volume important il s'agit de multiplier de volume de semence initiale, il est convenable de faire des cultures successives, si la concentration de culture est plus faible, il faut ombrer avec une agitation continue sinon la spiruline va

s'agglomère . Ensemencement des cultures est réalise à partir de biomasse frais filtré des cultures précédente, la filtration est réalisée par des filtre waltman n° 4 de porosité 13 µm[83].

Agitation elle est nécessaire pour assurer une bonne homogénéisation de culture et une bonne répartition de l'éclairage dans le volume de la culture. Deux à quatre fois par jour suffira au début de la culture, puis elle augmente avec la densité de culture et l'intensité de la lumière éclairée sur la culture. Cela permet d'évité la formation des bous minéraux et aussi l'agglomération des filaments de la spiruline [83].
Le mode d'agitation peut être manuelle avec un balai pour les bassins ouverts ou électrique avec une pompe d'aire pour les bioréacteurs fermer [83].

III .3.3. Contrôle de la contamination de la souche :

Il est vrai que la spiruline ne se contamine pas facilement par d'autres micro-organismes, 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 stérilisé la verrerie utilisé pour manipuler la souche, et aussi par des filtrations sur des filtres spéciales pour spiruline afin de purifier notre souche[85]. .

III .3.4.Mesure de la matière sèche :

La mesure de la matière sèche est classiquement utilisée pour déterminer la concentration en biomasse micro-algale. Cette méthode nécessite des volumes d'échantillons importants (de 50 à 100 ml) ce qui la rend non-envisageable comme mesure de routine dans des réacteurs de petit volume. Des plus, la mesure peut être faussée à cause de la présence de cellules mortes ou de polysaccharide produits par la micro-algue. Dans notre étude, cette mesure est effectuée seulement en fin de culture. La matière sèche (MS) en g/l est calculée en utilisant la formule suivante [87]

Ms= poids (filtre+culot sec)-poids (filtre)/volume de échantillon

III .3.5. Mesure de concentration des cultures:

La concentration des cultures est suivie par la mesure de la densité optique à 618 nm, un courbe étalon est établi entre les valeurs des densités optiques et les concentrations en

poids sec des cultures. Le poids sec des cultures est détermines selon la méthode de vanshak (1982) le calcule des poids sec pour chaque culture est obtenue de l'équation de beer lambert.

$$\mathbf{DO = Log\ I0/I = \varepsilon.L.\ C_b} \qquad \text{……………………………………………….} (3)$$

Où: **I_0** : Intensité faisceau lumineux monochromatique incident ;

I : Intensité faisceau lumineux ;

ε : Coefficient d'extinction moléculaire ;

Cb : Concentration du corps absorbant dans la solution.

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

filtrations sur des filtres Waltman ou par centrifugation à 600g ne afin de purifier notre souche.

III.4. Mesure des paramètres cinétique de croissance [9]:

III .4.1. La vitesse de croissance :

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

$$\mathbf{\mu\ max = (ln\ X1 - ln\ X2) / (t2 - t1)\ ln2} \qquad \text{…………………….} (4)$$

$$\mathbf{G = 1/\mu\ max} \qquad \text{…………………………………………} (5)$$

Tel que : ln X2 et ln X1 sont de fonction népérienne des concentrations de biomasse X_f est la concentration finale. Tel que t2 et t1 sont les temps de croissance.

III .4.2. La productivité [88] :

La productivité d'un système de culture est une grandeur largement utilisée pour caractériser ses performances et comparer différents systèmes entre eux. Deux types de productivités peuvent être définis en culture de microorganismes photosynthétiques : la productivité volumique et la productivité surfacique.

La productivité volumique (*Px*) définit la quantité de biomasse produite par volume de culture et par unité de temps. Cornet et Dussap (Cornet and Dussap, 2009) ont montré que la

productivité volumique maximale d'une culture pouvait se calculer théoriquement d'après l'équation(1).

$$\mathbf{Px} = \frac{Cmax - C0}{(T2 - T0)v} \qquad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (6).$$

Px : la productivité volumique (g/l)

C max : la concentration maximal de culture.

C0 : la concentration initiale de culture.

T2 et T0 : les temps de croissance

V : le volume de culture de croissance (1L)

III .5. Optimisation des facteurs physiologiques sur la croissance :

La croissance de spiruline est influencée par les conditions physico-chimiques du milieu tel que la source de s'azote, le phosphate, le pH et la salinité. Pour la composition du milieu, on pas modifier la constitution milieu Zarrouk, est –on donne qu'il le milieu idéale pour la croissance de spiruline, cependant pour la salinité et le pH sont des facteurs physiologiques dépondent des caractères de la souche étudiée ont été choisie pour l'optimisé la croissance.

III .5.1.Effet de salinité :

La spiruline est une bactérie non halophile, la concentration den NaCl influence grandement sur la croissance de la spiruline pour optimiser la la production de biomasse, on réalisé des des cinétiques de croissance pour différentes concentration croissante de NaCl (17, 25, 50, 70, 100 mM) .On ajoute les masses dans la culture de spiruline et placer dans le lieu de travail et on mesure l'absorbance à chaque jour, la meilleure résultat observer correspond à la salinité optimale de croissance.

III.5.2.Effet de pH :

La spiruline prospère en milieu très alcalin présente deux avantages majeurs, meilleure absorption du gaz carbonique de l'air et une protection contre les contaminations. Pour optimisé la croissance, la conduite de la culture de la spiruline sera porté pour une gamme de valeur de pH allant de 8.5 à 10.5. On réalise les cultures dans des tubes à essais pour les quelle on ajuste fixe la valeur de pH du milieu par l'ajoute de NaOH et HCl.

La lecture l'absorbance est effectuée pour chaque culture quotidiennement la meilleure valeur de pH est notée pour le reste de travaille.

III.5.3. Effet de densité de culture et l'intensité d'éclairage sur la production de biomasse

Pour étudier l'effet de intensité lumineuse et densité des culture sur la productivité des biomasse algale, on a réalisé des cinétique de croissance à différente densités de culture porté à différente intensité lumineuse. Les expériences développées sur trois volume de PBR sont résume dans le tableau suivant :

Tableau III.4 : combinaison des expériences des rois PBR :

les facteurs			
Le volume forme en ml	Conique (200ml ; 500ml)		
Concentration de spiruline en g/l	1g	2.25g	3.5g
L'intensité lumineuse lumière en (LUX)	1800 5500 10000	1800 5500 10000	1800 5500 10000

III.6.Détermination de teneure en chlorophylle [89] :

Le teneur en chlorophylle-a est déterminé à la fin de croissance de culture par la méthode spectrophotométrie. Les étapes d'extraction et purification sont résumes dans l'organigramme ci-dessous :

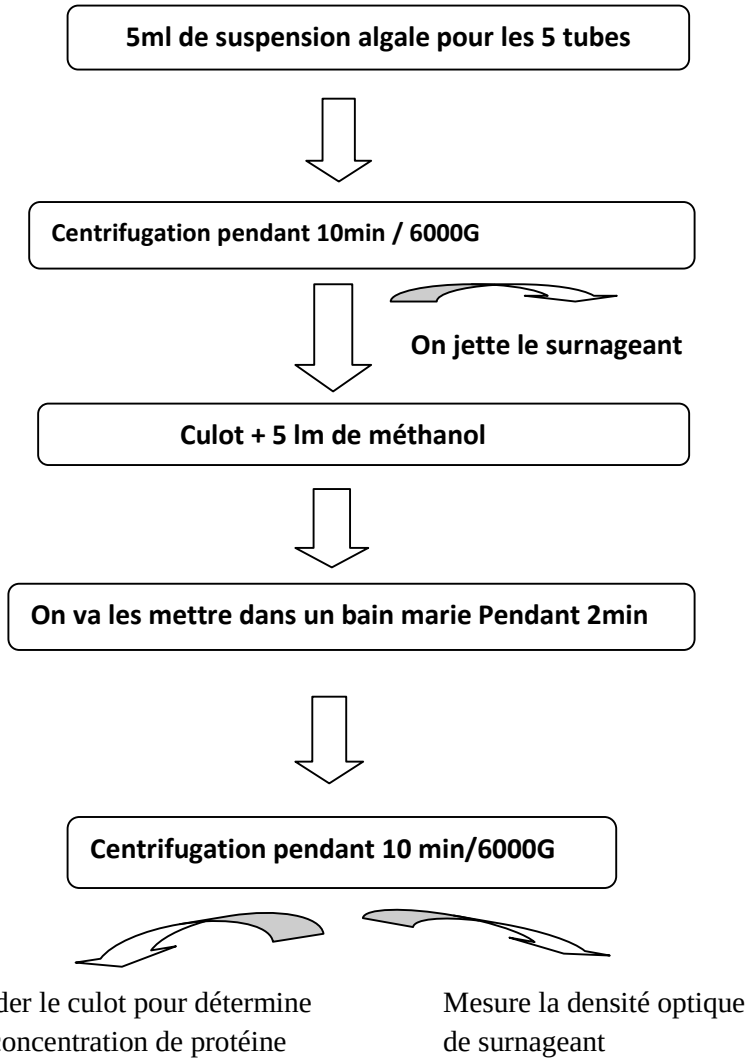


Figure III.4: Les étapes d'extraction et purification de chlorophylle

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



Figure III.5: l'extraction et purification de chlorophylle

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

$[ch_a] = 11,6\ DO\ 665 – 1.31\ DO645 – 0.14\ DO630$ ……..(7).

III.7. Extraction et dosage des protéines [90]

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

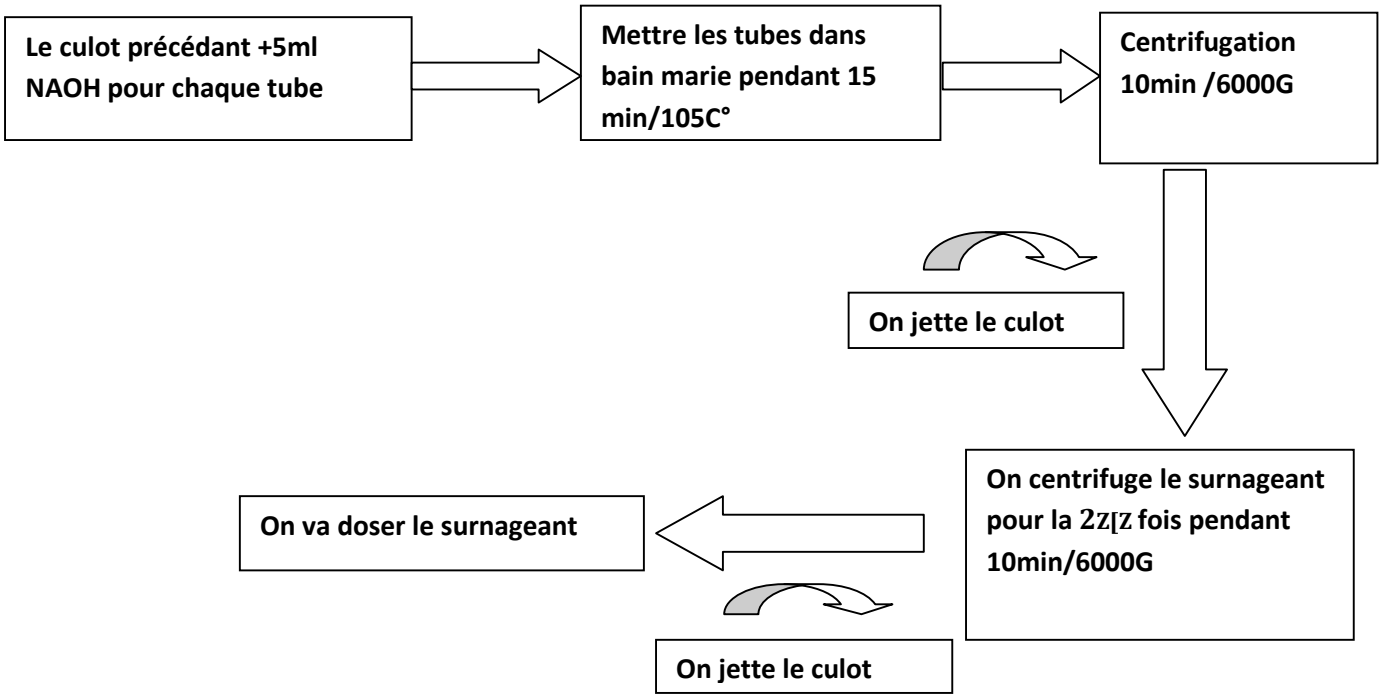


Figure III.6: les étapes extraction de protéine

III.7.1. Dosage de protéine par méthode de Bradford(1976) [91] :

Les protéines ont été dosées selon la méthode de Bradford (1976) qui repose sur un dosage colorimétrique basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm) se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Comassie après complexassions avec les acides aminées aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines [91].

La forme anionique (liée) du colorant est bleue et possède un spectre d'absorption maximal estimé à 595 nm. Les formes cationiques (libres) du colorant sont rouges et vertes, absorbant à 465 – 470 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la qualité du colorant lié et indique la concentration en protéines de l'échantillon [91].

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

absorbant à 465 – 470 nm. Le changement d'absorbance est proportionnel à la qualité du colorant lié et indique la concentration en protéines de l'échantillon [91].

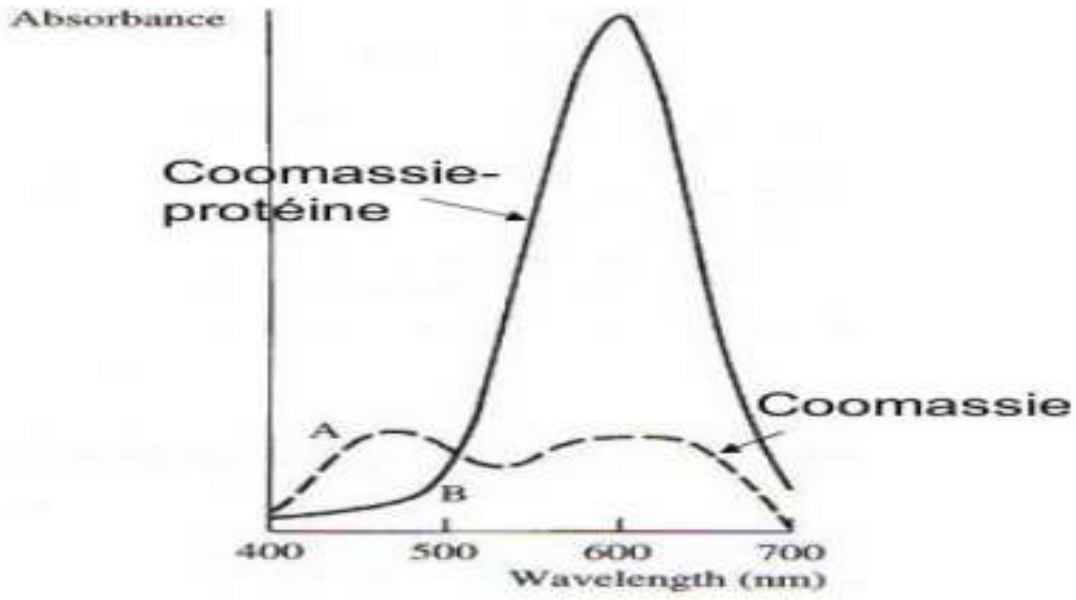


Figure III.7: Le Spectre d'absorption du complexe Coomassie-protéine [92]

Les avantages de la méthode de Bradford

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

III.7.2 Préparation de réactif de Bradford :

Bleau de Coomassie G250	*100 mg*
Ethanol à 95%	*50 ml*
*Acide phosphorique (*H3PO4) à 85%	100 ml
dH2O	QSP 1L

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

- Cette méthode articule sur la loi de *Béer-Lambert* pour déterminer une concentration inconnue d'une solution protéique (EEPP). Dans la première étape. on trace la courbe d'étalonnage A= f ([Protéine]) comme suit :
  - Prendre 5 tubes à essaies, y introduire :
  - o 0,1 ml de l'albumine à différentes concentrations [0-100] (mg/l) avec un pas de 25 mg/l.
  - o 0,25 ml NaOH (1 M).

o 5 ml du réactif de Bradford.

o Agiter puis laisser les tubes 10 min pour développer la coloration.

o Chaque concentration correspond à une absorbance.

▪ A la afin, on trace la courbe A=f ([Albumine])

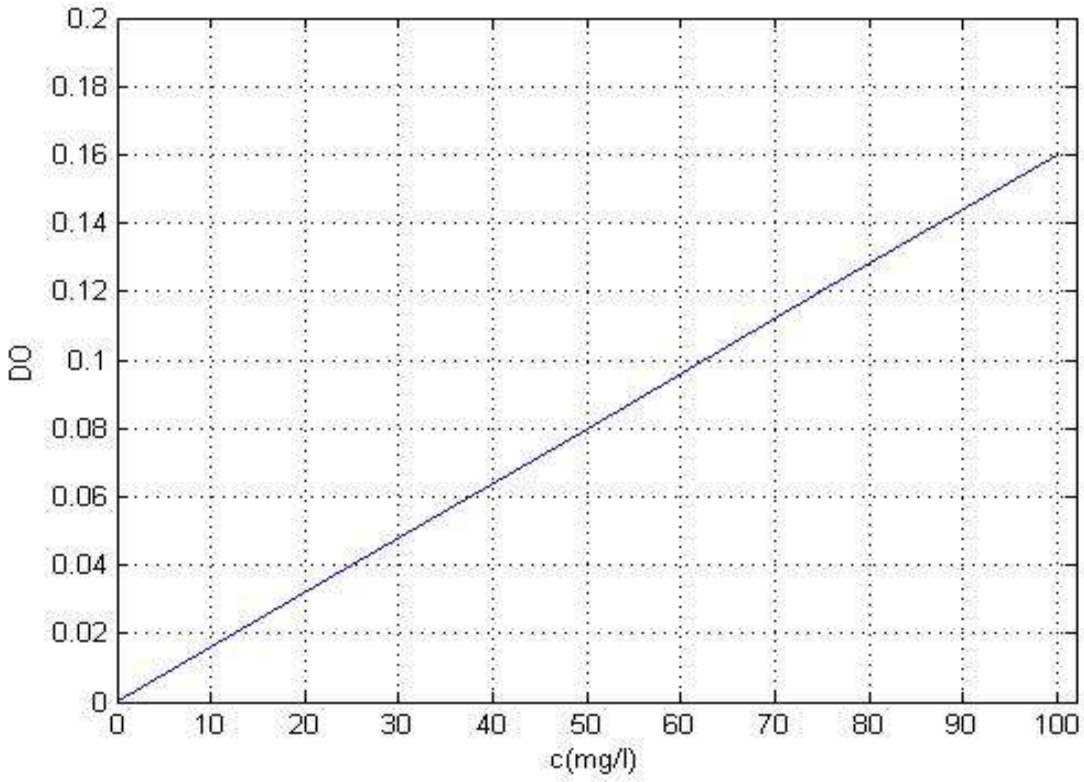


Figure III.8: Courbe d'étalonnage de l'albumine humaine, λ=595 nm,

L'équation de la courbe :

A=0.0016 [Albumine]

Dans un tube à hémolyse contenant 0,100 ml de l'échantillon à doser, on ajoute 2 ml de réactif au bleu de Coomassie *0*,25 ml NaOH (1 M). et on mélange le tout; après 5 min, on lit les absorbances à 595 nm contre un réactif témoin. L'absorbance de chaque concentration a été déterminée et une courbe d'étalonnage a été établie. la quantité de protéine est selon l ' équation suivante Q= C*50 tel que 50 est le facteur de dilution puis % de protéine = (Q*100)/poids sec de biomasse en mg de protéine par g de biomasse PS

III.8 la détermination du poids sec

III.8 .1 La courbe étalon :

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

1. Des suspensions de 50 mL de culture à différentes concentrations sont réalisées puis filtrées à travers des filtres (Wattman) préalablement séchées dans l'étuve pendant 24 h pendant une nuit à 70°C (ou bien 2 h à 105°C). Elles sont ensuite laisser pour refroidissement et déshumidification dans le dessiccateur.
2. Chaque filtre est pesé (P_0) et numéroté de 1 à 5.
3. Après filtration, on lave avec 20 mL d'eau acidifiée (pH = 4) pour enlever tous les sels insolubles de l'algue.
4. Les filtres sont mis dans des boites de pétrie en verre puis dans l'étuve dans les mêmes conditions que précédemment.
5. Après refroidissement dans le dessiccateur, ils sont pesés une deuxième fois (P_1).

Le poids sec (Ps) = (P_1 - P_0)*20.

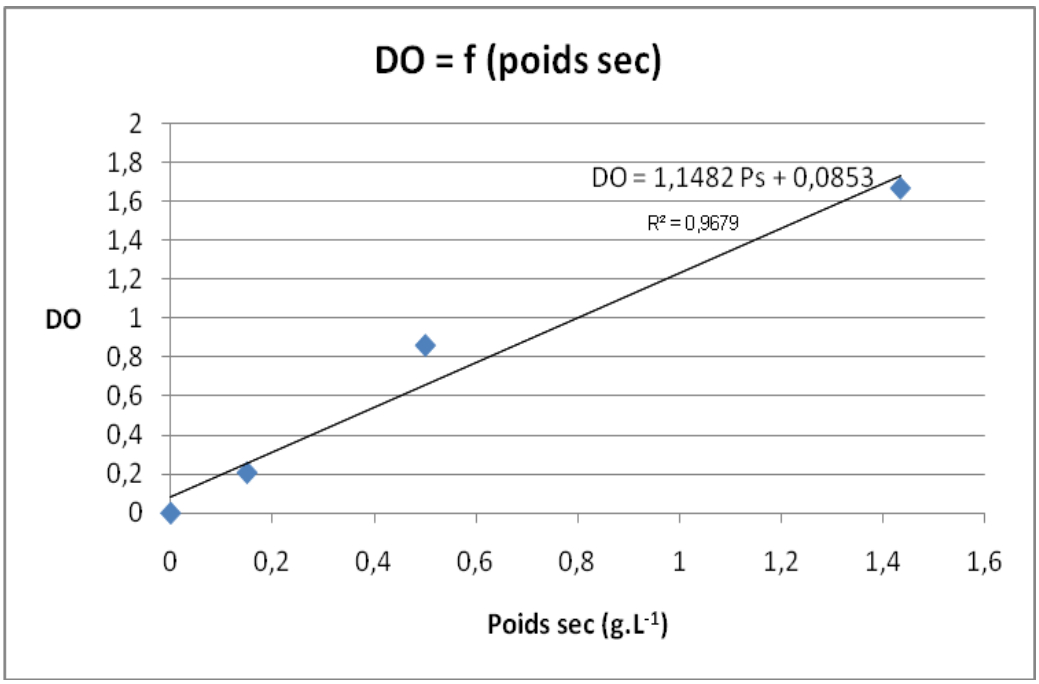


Figure III.8. Courbe étalon mettant en relief la relation entre la densité optique et le poids sec de la souche.

Chapitre IV : Résultat et Discussion

A partir de mes expériences qu'on à fait dans laboratoire de Hall Technologie de Médéa on obtient des graphes chaque graphe est lie la croissance de spiruline on fonction d'un facteur bien détaille.

IV.1. comparaison de cinétique entre PBR conique et cylindrique :

La figure si dessus représente la cinétique de croissance de spiruline dans deux PBR différentes (conique et cylindrique) et en fixant l'inoculum de départ à 1g/l.

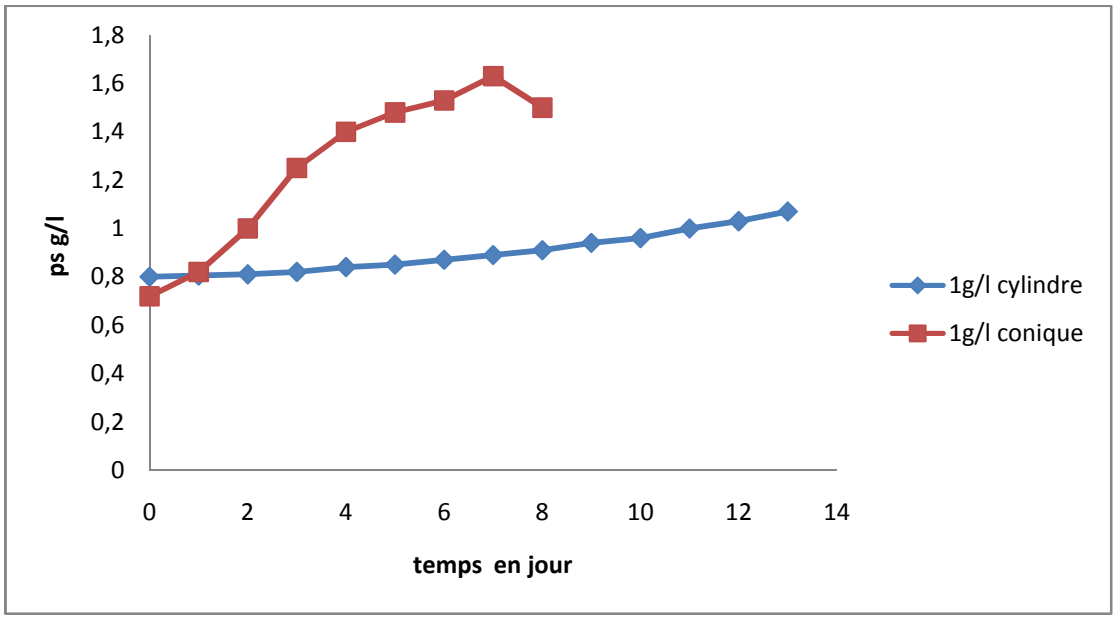


Figure IV.1 **:** Cinétique de croissance de spiruline dans deux PBR.

A partir de ce graphes on observe que la meilleure croissance correspond à ce lui le PBR conique.

La vitesse de croissance dans le PBR conique est supérieur de ce lui que la PBR cylindrique cette différence peut être expliqué par l'effet d'ombre.

L'avantage de PBR conique peut être expliqué par deux causes. La première est du à la zone d'ombre dans la profondeur de culture.

Dans le PBR cylindrique cette zone d'ombre est supérieur de ce lui de PBR conique.

La deuxième est peut être du à la surface incliné de PBR conique la radiation est perpendiculaire à la surface de PBR. Ce la évité l'effet de l'inflexion du radiation émise.

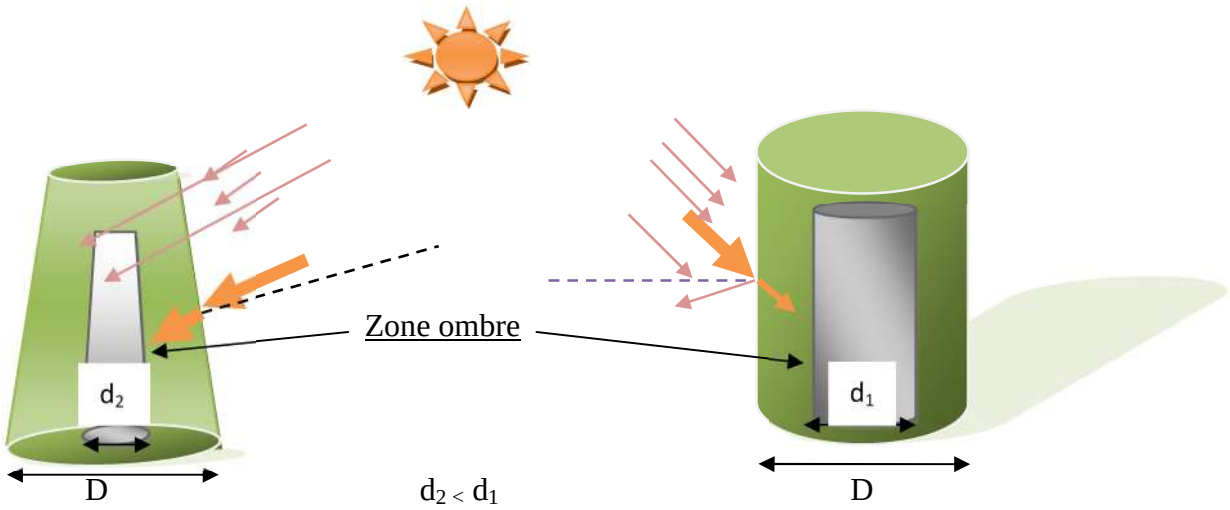


Figure IV.2 : schéma présente l'effet de lumière sur les deux PBR (conique et cylindrique)

IV.2.Caractérisation physiologique :

Les facteurs physiologique influence grandement sur la croissance de spiruline. Deux facteurs physiologiques sont été choisis pour cette caractérisation, la salinité et le pH.

IV.2.1. Effet de salinité sur la cinétique de croissance :

Les résultats de l'effet de salinité sur la cinétique de croissance de spiruline sont représentent sur la figure au dessous (Figure IV.3)

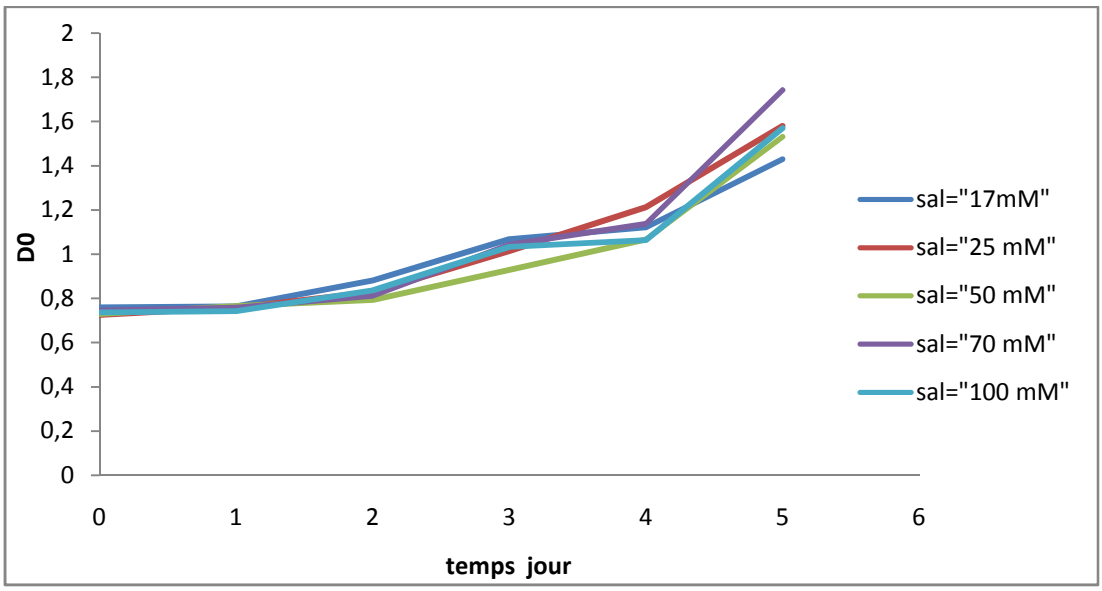


Figure IV.3**:** Cinétique de croissance de spiruline dans différente salinité.

La cinétique de croissance de différente concentration de NaCl étudie entre l'évolution positive de l'allure de croissance.

Au départ des cultures (0à3jour) :

La valeur optimale de croissance est obtenue de salinité 17 et 25 Mm, ces résultats sont à accord avec celle de l'auteur les résultats cité par Hafidh Al et al (2015) **[81]**

Après 3 jour l'allure de croissance pour concentration supérieur de 25Mm est plus de élevé de précédente (17 et 25mM) ce résultat peut être expliquer pour l'effet inductible de sels pour les concentrations supérieur ou égale de50 Mm ; la tolérance au salinité induit la synthèse des EPS (exo polysaccharide) et accumulation de électrolyte tel que proline, betaire…

IV.2.2. Effet de pH sur la cinétique de croissance :

Les résultats de pH sur la croissance de spiruline sont illustrés sur la figure (IV.4**)** si dessous

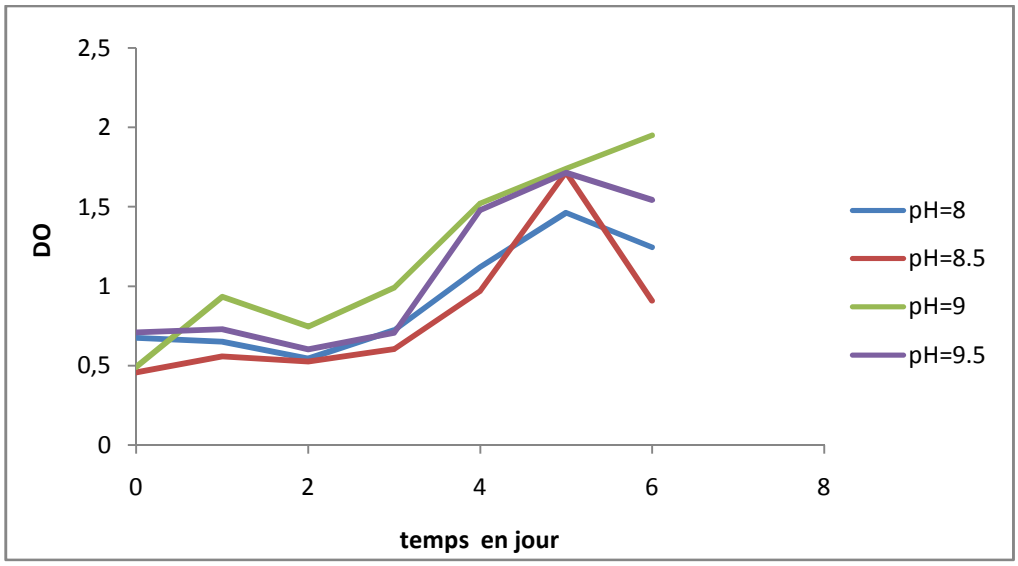


Figure IV.4 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente pH.

L'évolution de croissance pour différentes valeurs de pH testés.

Le pH 9 montre une meilleure cinétique durant la période d'étude (5jour). Au de la de 5^{ième}jour ce pour les autres valeurs de pH (8 8.5 9.5) montre une phase de clin au 5^{ième} jour.

Le pH 9 est le pH de milieu Zarrouk à la reconstitution présente un pH optimal de croissance de spiruline Ola.T et al (2013) **[82]**

IV.3. Effet de l'intensité lumineuse sur la cinétique de croissance :

Les résultats obtenus sur différentes intensité lumineuse par la culture de 3.5g et 1 g présenté sur la figure IV.5 et IV.6

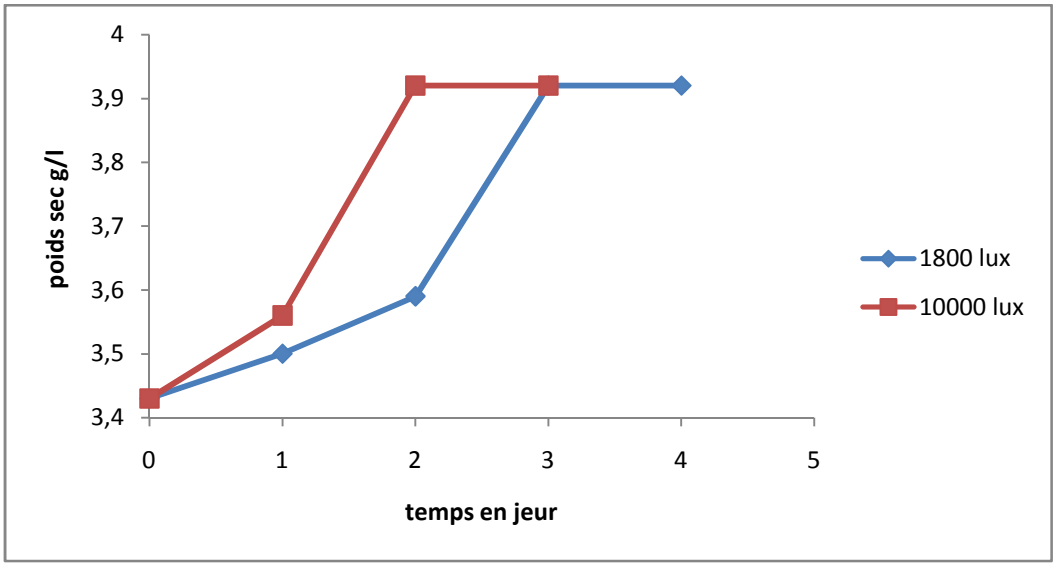


Figure IV.5 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente intensité lumineuse à Ps=3.5 g/l V=200ml

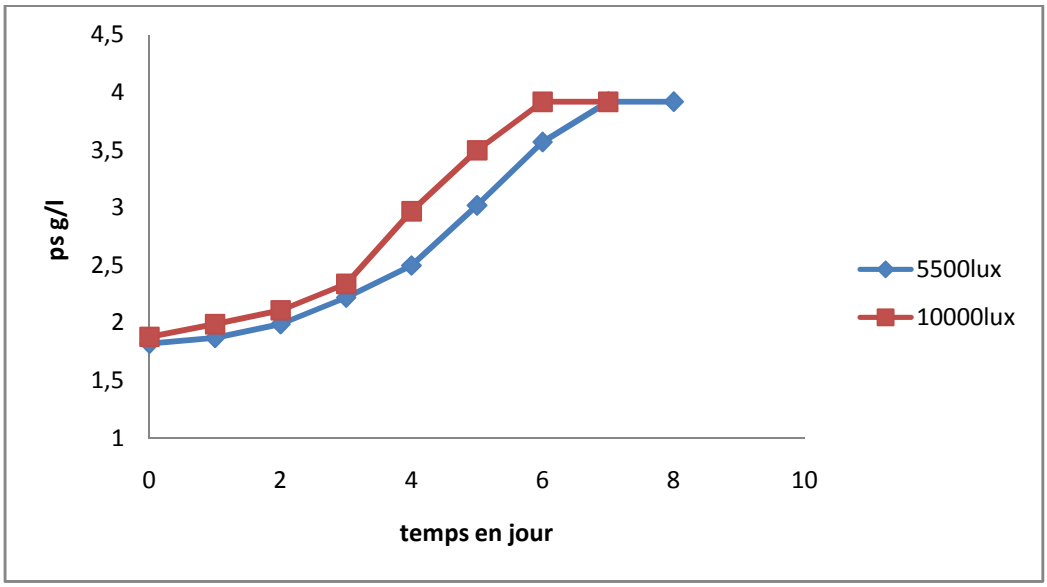


Figure IV.6 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente intensité lumineuse (10000lux.5500lux) de 2.25g/l à 200ml.

Pour la culture plus dense de 3.5g/let 2.25g/l on observe une vitesse de croissance plus élevé à l'intensité lumineuse de 10000 lux que celle de 1800lux et 5500lux respectivement.

On peut interpréter les résultats à l'intensité de 1800lux est 5500lux par l'effet de photo-limitation c'est-à-dire la distribution de la lumière n'est pas homogène dans tout le PBR pour

favorisé l'activité photosynthétique chez tous les micro-organismes, donc il y a une réduction de vitesse a cause de diminution de productivité de biomasse.

Pour l'intensité de 10000lux il y a une proportionnalité entre l'intensité lumineuse et les densités (3.5g/l,2.25g/l) (phénomène de photo-saturation), la lumière suffisante pour pénétrer dans tout point de PBR et donne une énergie plus grand à les chlorophylles pour augmenter l'activité photosynthétique qui élevé la production de biomasse en réduite. Donc elle est optimisé la vitesse de croissance.

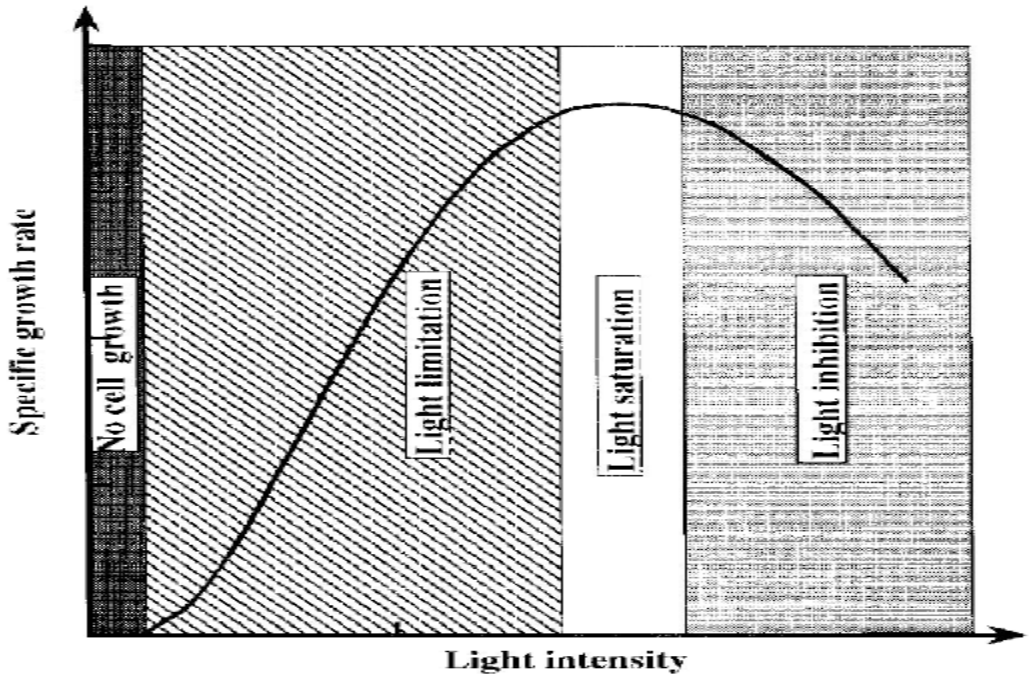


Figure IV.7 : effet de la lumière sur taux de croissance spécifique de spiruline **[83]**

IV.4.Effet de l'inoculum de départ sur la cinétique de croissance :

Pour la même intensité lumineuse l'évolution de croissance sous l'effet de l'inoculum de départ sont résumes dans les figures (IV.8. IV.9).

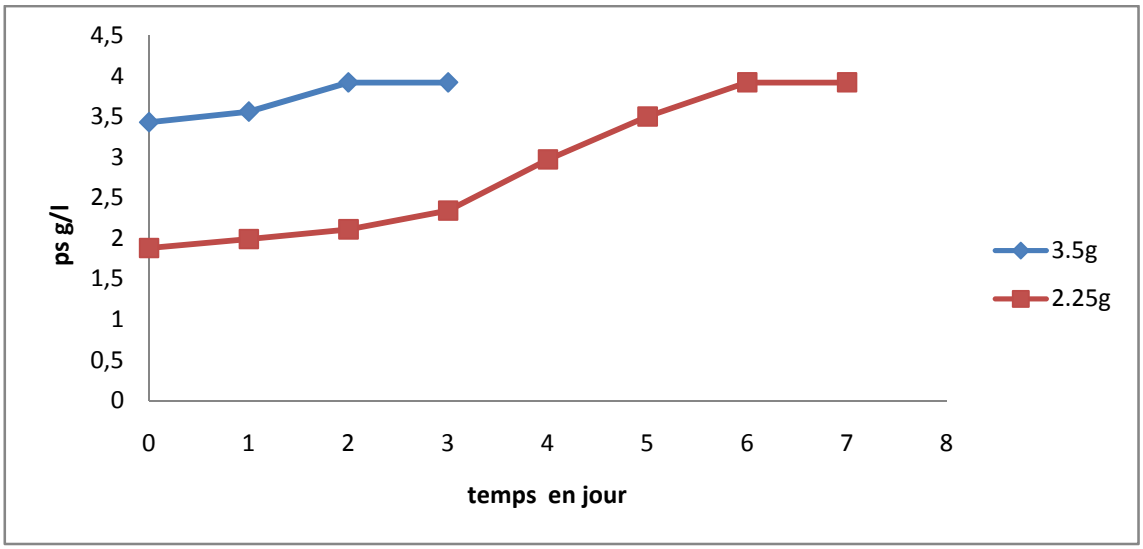


Figure : IV.8 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente concentration de départ (2.25g.3.5g) à l'intensité lumineuse de 10000lux.

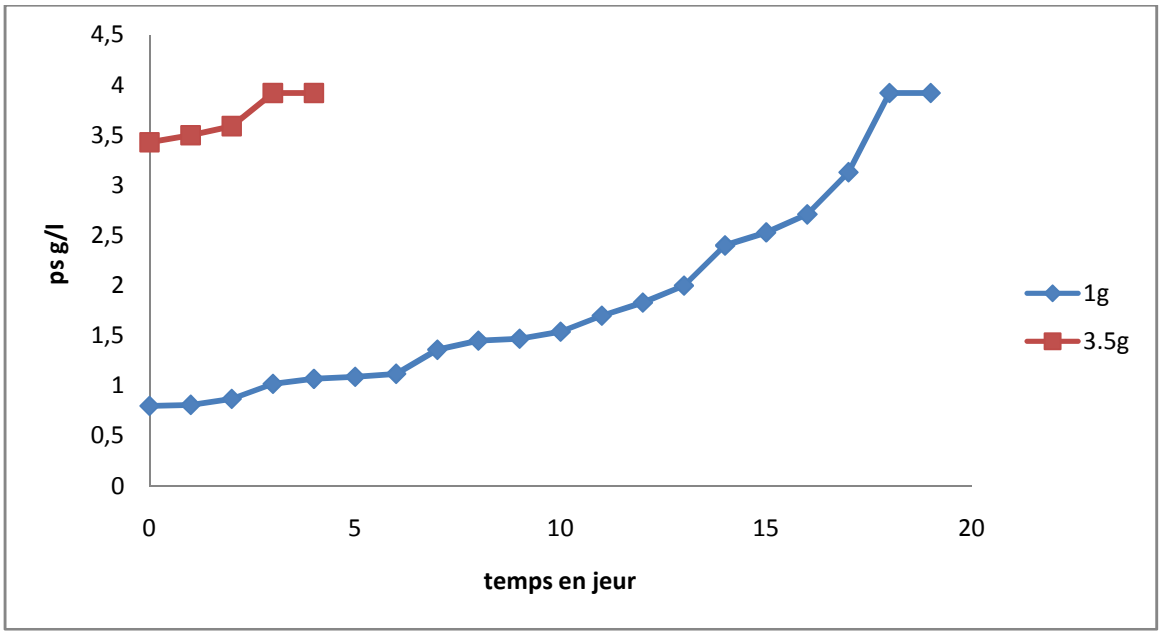


Figure : IV.9 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente concentration de départ(1g/L.3.5g/L) à l'intensité lumineuse de 1800lux.

La culture de densité faible (1g/l 2.25g/l) a donné une productivité plus grande que celle de forte densité. On peut interpréter ces résultats par de photo-limitation à forte densité (3.5) et photo-saturation pour les cultures de faible densité.

IV.5 Effet de surface de contacte sur la cinétique de croissance :

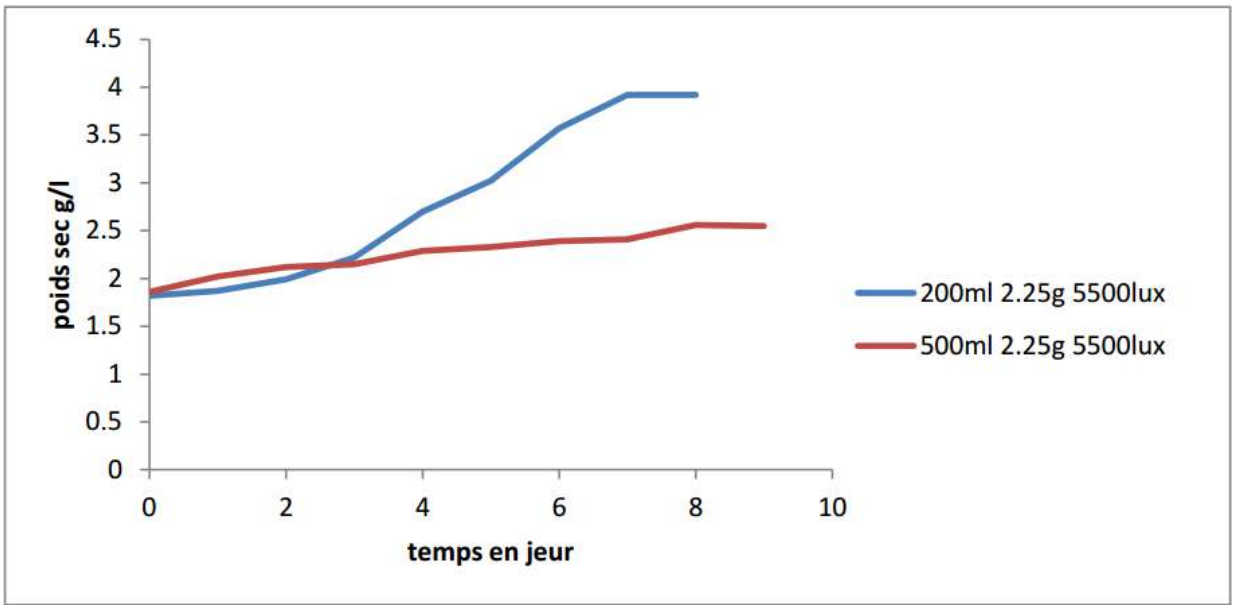


Figure IV.10 : Cinétique de croissance de spiruline dans différente volume PBR (200ml.500ml).

Au regard des résultants obtenus, on constate que la spiruline croit plus massivement avec un diamètre réduit que avec un diamètre élargie. Ce la peut être du au fait que, le contact entre les micro-organismes et les nutriments ainsi que l'efficacité de la lumière est plus efficace que lorsque le diamètre est élargie.

IV.6. Comparaison entre les déférentes productivités :

A partir des différentes expériences de culture de spiruline dans un milieu Zarrouk synthétiser à différentes conditions. On a déterminé les productivités dans chaque expérience qu'on a faite. Les résultats représente se forme d'histogrammes dans la figure IV.11.

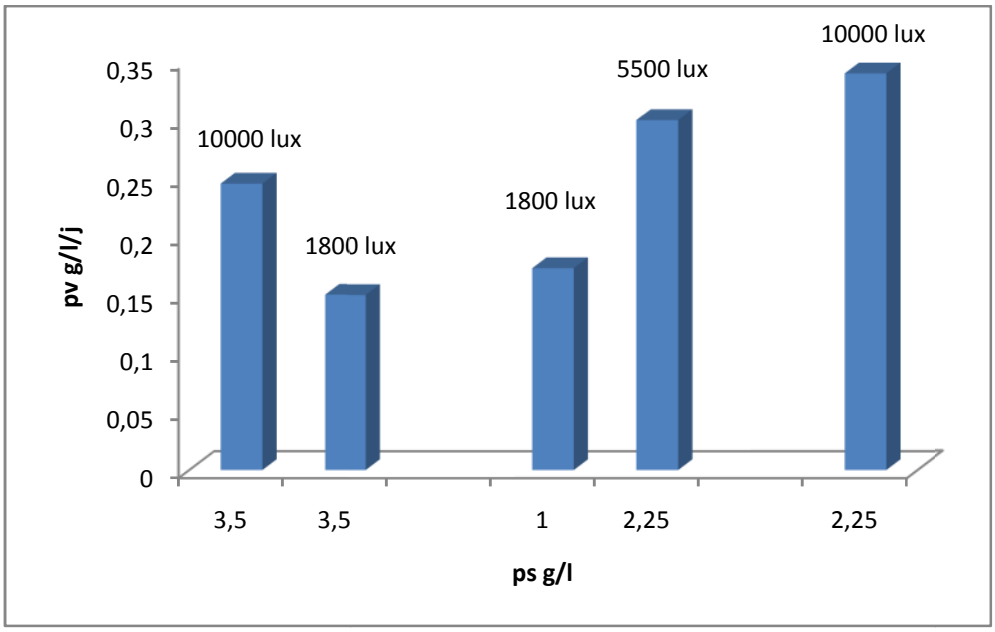


Figure IV.11: histogramme présente les productivités de chaque expérience dans le PBR de 200ml.

On constate que la meilleure productivité de concentration de départ 2.25g/l à l'intensité lumineuse 10000 lux dans PBR de 200 ml. On peut interpréter ce résultat la quantité de lumière qui pénétré dans la culture est suffisante pour la saturation des chlorophylles, cette dernière donne une meilleure activité photosynthétique, et donc une meilleure production de biomasse.

La faible productivité corresponde l'expérience de 3.5g/l de départ avec une intensité lumineuse appliqué de 1800lux. On peut expliquer sa par une diminution de pénétration de lumière dans la culture, donc il y a une zone ombré importante dans cette zone les micro-organismes fait la respiration qui diminue la biomasse par la consommation des composantes. Jean-Franc-ois Cornet(2010). **[85]**

IV. 7) Teneure en protéines et chlorophylles :

Les teneures en protéine et chlorophylle obtenue sont 70% et 5.62mg/g respectivement. Ce la explique que les cultures réaliser sont en bonne état physiologique**. [86]**

Conclusion

Conclusion

Les photo-bioréacteurs batch offrent un certain nombre d'avantages, permettent d'appréhender les phénomènes cinétiques. Ils présentent un meilleur rendement de fixation du CO2 par les micro-algues, une meilleure production en biomasse, un meilleur contrôle du procédé et permettent de limiter les contaminations.

Dans notre travail nous avons optimisé les facteurs physiologiques tels que le pH et la salinité ; l'effet des paramètres du PBR conique et étudier la production en biomasse de la spiruline. Ainsi les facteurs de croissance de celle-ci ont été évalués, et le taux de croissance ainsi que la teneur de protéine et chlorophylle. D'après les résultats obtenus, il ressort que le pH optimal croissance de la spiruline est 09. De plus la salinité tolérable est entre 17 et 25 mM pour une croissance optimale de la souche. L'intensité lumineuse étant retenue à 10000 lux afin d'accroitre la productivité avec un inoculum de 2,25g/l. Enfin il a été quantifié que les teneurs en protéine et chlorophylle sont 70% et 5,62 mg/g respectivement.

En guise de perspective, il sera important d'étudier l'effet de transfert de masse dans le milieu, puis l'effet de la chaleur en fonction du dimensionnement du photo-bioréacteur. Ainsi, modéliser le procédé dans son ensemble afin d'augmenter les performances du photo-bioréacteur et du procédé par la même occasion.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE :

[1] SGUERA S. *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université HENRI POINCARE, Nancy, France(2008).

[2] PEIRETTI G-P., MEINERI G. (2011). Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the carcass characteristics, meat quality and fatty acid composition of growing rabbits. Livestock Science, 140, 218-224.

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

[4] Fox R.D. *Spiruline, Technique pratique et promesse*. Aix en provence: Edisud; 1999.

[5] Girardin-Andréani C. *Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer*. Phytothérapie. 2005; 4: p. 158-161.

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

[7] Svcerk C., Smith D.W. *Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment option: a review*. Journal of Environmental Engineering and Science. 2004; 3: p. 155-184.

[8] Charpy L., Langlade M.J. et Vicente N.*CSSD : " Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement"*. Colloque international. 3-6 mai 2004. p. 1-6.

[9]Farrar W.V. *Techuitlatl, A Glimpse of Aztec Food Technology*. Nature. 23 juillet 1966; 211: p. 341-342.

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

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

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

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

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

BIBLIOGRAPHIE

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

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

[17] Gonnet J, 2005. La spiruline, une cyanobactérie comme instrument de développement durable pour réduire l'insécurité alimentaire et soutenir une activité traditionnelle féminine.Diplôme d'études supérieures spécialisées en écologie humaine DESS. Tchad. Université de Lusanne.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

BIBLIOGRAPHIE

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

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

[31] Doumenge F,Durand-Chastel.H and Toulemont A., 1993. Spiruline, algue de vie/ Spirulina, algae of life. *Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco* ; numéro spécial 12.

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

[33] Vonshak A., 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis, Negev, Israel. Ed. Avigad Vonshak. p 233

[34] Tomaselli L. 2002. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of Arthrospira (Spirulina) maxima and Arthrospira (Spirulina) platensis, in: Vonshak A. *Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, Cell Biology and Biotechnology*, Taylor & Francis, London, pp.1-17.

[35] Rafiqul IM, Hassan A, Sulebele G, Orosco C and Roustaian P., 2003. Influence of temperature on growth, biochemical composition of *Spirulina platensis*, *S. Fusiformis*. *Iran Int J Sci*: 97Ŕ106.

[36] Ogbonda KH, Aminigo RE and Abu GO., 2007.Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative Spirulina sp. *Bioresour Technol*: 98:2207Ŕ11.

[37] Jordan J P, 1999**.** *Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal* .Publication Antenna Technologies.

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

[39] Charpy L, 2008. Colloque International « la Spiruline et le développement», formation et transfet de thechnologie, en matière de culture de Spiruline : 28 - 29 et 30 avril 2008.Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR : 8 , 9 , 89 , 91 , 131-134.

[40] Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., and Bourges, H. 1996. Farmacología y toxicología del alga Spirulina. *Rev Invest Clin*:389-399.

BIBLIOGRAPHIE

[41] SOULIÈS Antoine. Contribution à l'étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique. Diplôme d'Etat de Docteur en Génie des Procédés ,Université de Nantes, Nantes, France(2014).

[42] : http://www.antenna.ch/recherche/malnutrition/spiruline-histoire

[43] : JARISOA Tsarahevitra,– Adaptation de la spiruline du sud Dde Madagascar a la culture en eau de mère. Mise au point de structure de production Aa l'échelle villageoise 24 Mars 2005 p 12

[44] : J.P Jourdan .Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production despiruline.2006.

[45] : http://www.Spirulineburkina.org

[46] : http://www.spirunet.org/livres/livret-guide-de-production-de-Spiruline

[47] : Hélène CRUCHOT. 13 mai 2008. la spiruline bilan et perspectives

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

[49] Beijerinck, M.W. (1890). Kulturversuche mit Zoochloren, Lichenengonidien und anderen niederen. *Algen. Bot. Ztg*. 48, 725-785.

[50] Ugwu C.U., Aoyagi H., Uchiyama H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology* 99, 4021-4028.

[51] OLIVO Erell .conception et etude d'un photobioreacteur pour la production en continu de microalgues en ecloseries aquacoles . diplôme d'etat de docteur en génie des procédés,universite de nantes. nantes. france(2007).

[52] FAO/WHO/UNU. *Protein Quality Evaluation. Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation: 1985 FAO/WHO/UNU 2- to 5-yearold requirement pattern*. FAO; 1991. 51.
[53] Sanchez Miron A., Ceron Garcıa M.C., Garcıa Camacho F., Molina Grima, E., Chisti Y. (2002). Growth and characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme Microb. Technol.* 31, 1015–1023.

[54] Camacho Rubio F., Acien Fernandez F.G., Sanchez Perez J.A., Garcia Camacho F., Molina Grima E. (1999). Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng* 62, 71–86.

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

BIBLIOGRAPHIE

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

[57] Lee, Y.K. (1997). Commercial production of microalgae in the Asia-pacific rim. *J. Appl. Phycol*. 9, 403-411.

[58] Ogbonna, J.C., Tomiyama, S., Tanaka, H. (1998). Heterotrophic cultivation of *Euglena gracilis* Z for efficient production of α-tocopherol . J. appl. Phycol. 10, 67-74.

[59] Richmond A. *Handbook of microalgal mass culture*. 1986. CRC Press, Inc.

[60] Doucha, J., Livansky, K. (1995). Novel outdoor thin-layer high density microalgal culture system : productivity and operational parameters. Algol. Stud. (Trebon) 76, 129-147

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

[62] Kebede E., 1997. Response of Spirulina platensis (*Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to salinity stress from sodium salts. *Jounal of Applied Phycology* 9: 551- 558.

[63] Borowitzka .M.A , Borowitzka L. J,. 1988. Microalgal biotechnology. *Cambridge University Press*. p 477.

[64] Borowitzka .M.A , Borowitzka L. J,. 1988. Microalgal biotechnology. *Cambridge University Press*. p 477.

[65] (Applied Photosynthetics Ltd. www.campusventure.co.uk/apl; Tredici 1999)

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

[67] Zhang HQ, Lin AP, Sun Y and Deng YM., 2001. Chemo- and radio-protective effects of polysaccharide of Spirulina platensis on hemopoietic system of mice and dogs. *Acta Pharmacol Sin*: 1121-1124**.**

[68] Pulz, O. and Scheibenbogen, K. (1998). "Photobioreactors: Design and performance with respect to light energy input." Advances in Biochemical engeneering **59**. 123-152.

[69] Volkmann H, Imainovsky E. Badial F J, BARCELOS OLIVEIRA J L and SEBASTIÃO SANT'ANNA E., 2007. Influence of desalinatore wastewaster for the cultivation of *Arthrospira palatensis*. *Grasas y aceites*: 396-401.

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

BIBLIOGRAPHIE

[71] Watanabe, Y., de la Noüe, J. and Hall, D. O. (1995). "Photosynthetic performance of an helical tubular photobioreactor incorporating the Cyanobacterium *Spirulina platensis*." Biotechnology and Bioengineering **47** (2). 261-269.

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

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

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

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

[76] Antoine SOULIÈS Contribution à l'étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique Diplôme d'Etat de Docteur en Génie des Procédés Université de Nantes, Nantes, France(2014).

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

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

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

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

[81] Hafidh Al.al. Different salinity effects on the mass cultivation of Spirulina (*Spirulina Platensis*) under sheltered outdoor conditions in Oman and Malaysia. J. Algal Biomass Utln. 2015, 6 (1): 1-14.

[82] Ola et al. Optimum conditions on biomass and bioactive materials of the Cyanobacterium *Spirulina Platensis* grown on Nile water based medium.
4th International Conference on Chemical, Ecology and Environmental Sciences (ICCEES'2013) Oct. 6-7, (2013).63-67.

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

[84] Hanene Badri, N. Leys, and Ruddy Wattiez. "Effects of artificial light and ionizing radiation on photosynthetic cyanobacterium Arthrospira sp. PCC 8005 used for oxygen and food production in space". In: (2011).

BIBLIOGRAPHIE

[85] Jean-Franc-ois Cornet . Calculation of optimal design and ideal productivities of volumetrically lightened photobioreactors using the constructal approach. Chemical Engineering Science 65 (2010) 985–998 .

[86] U.K. Chauhan et al. Effect of different conditions on the production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. J. Algal Biomass Utln. 2010, **1** (4): 89 – 99.

Anenexe01 : Résumé de plusieurs descriptions d'*Arthrospira platensis*

Date	Auteur et lieu	Longueur des cellules µ	Diamètre des cellules µ	Diamètre des spires µ	Distance entre spires µ
1844	Wittrock & Nordstedt , Montevideo, UruguayMaurice Gaumont citant	2-6	6-8	26-36	43-57
1893	Wittrock & Nordstedt	2-6	6-8	26-36	43-57
1931	Florence Rich, Lacs, Elmenteia, Cratère & Nakuru, Kenya	3-10	6-11	36-60	15-45
1967	Léonard J. & Compère P. 5 Kanem, Tchad Fox R.D,		6-9	25-45	35-50
1980	Lac Orovilca, Pérou Fox R.D,	2,5*	7,8*	36*	95*
1984	Lac Lonar, Inde, de pargaonkar S. Fox R.D,	4,5*	12*	99*	55*
1990	Lac Cratère, Mexique, de Durand-Chastel H. Fox R.D,	3,2*	12,45*	52,3*	52*
1993	Paracas, Pérou, de Planchon G. & Fuentes R.Fox R.D,	2,4*	9,5*	33*	43*
1994	Camargue, de Plancon G. & Fuentes R. Fox R.D,	2,3*	11,6*	44*	109*
1994	Toliara, Madagascar, de Nguyen Kim Ngam Fox R.D,	3,8*	7,2*	21,2*	32,5*
1994	Olive Mill, Californie, de Knutsen G., Bergen Norvège	2,6*	6,1*	32*	65*

Annexe02 : Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis*

Pays d'Afrique	Sites
Algérie	Tamanrasset (E. Boileau, 1988)
Tchad	La région du Kanem : les lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Soudan	Cratère du Djebel Marra
Tunisie	Lac Tunis (M. Belkir, 1978), Chott el Jerid (M. Belkir,1997)
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Congo	Moungounga
Kenya	Lac Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Zambie Ngan, 1994)	Lac Bangweoudou
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara (Nguyen Kim Ngan, 1994)
Asie	
Inde	Lac Lonar (Damle, 1978), un réservoir près de Madurai (J. Bai, 1984), une réserve près de Calcutta (K. Biswas), Lac Nagpur (S. Pargaonkar, 1981)
Pakistan	Mares près de Mlahore (R. D. Fox, 1980 ; Ghose, 1924)
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de Radburi, 80 km au S.O de Bankok (Marakot Tanticharoen, 1924)
Azerbaidjan	(Woronichin, 1924)
Amérique du sud	
Pérou	Lac Huacachina, près d'Ica, maintenant rempli d'eau douce, il ne contient plus de Spiruline. Lac Ventanilla, sur la côte près de Lima (M. Figueroa, 1987) : on n'en trouve plus actuellement. Réservoir d'eau près de Paracas (G. Planchon & R. Fuentes, 1993)
Mexique	Lac Texcoco (M. David, 1976), Lac Cratère (H. Durand-Chastel, 1990)
Uruguay	Montevideo, signalé par Arechavaleta in Wittrock & Nordstedt (1884)
Equateur	Lac Quiliotoa : cratère de diamètre 1km (Yann Leroux,*Jarisoa T Culture de la Spiruline en eau de mer(1998).*
Amérique du nord	
Californie	Oakland, Key Route Power House (N. L. Gardner, 1917), Del Mar Beach (R. A. Lewin, 1969) Un moulin à huile (Knutsen G., 1994)

Haïti	Lac Gonâve (M. Pierre, 1986)
République Dominicaine	Lac Enriquillo (H. Durand-Chastel, 1993)
Europe	
Hongrie	(J. Kiss, 1957)
France	Camargue (G. Plachon &R. Fuentes, 1994)

Annexe 03 : les paramètres cinétiques

	P_X	U_{max}	G
200 ml 1g 1800 lux	0.173	0.13	7.69
200ml 2.25g 5500lux	0.3	0.16	6025
200 ml 2.25g 10000lux	0.34		
200ml 3.5g 1800lux	0.15	0.05	15.38
200ml 3.5g 10000 lux	0.245	0.1	10
500ml 1g 5500 lux	0.13	0.21	4.76
500ml 2.25g 5500lux	0.08	0.05	20

Photo 1 : déférente états de Culture



Photo 2 : cas de photolyse



Photo 03 : filtration



La teneur en protéine et en chlorophylle :

	01	02	03
La protéine (g/l)	60%	45%	70%
La chlorophyle (mg/g)	4.5%	3.22%	5.62



PH mètre



Balance



Agitateur