



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et de Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Santé et Environnement

Filière : Hydrobiologie marine et continentale

Spécialité : Ecosystèmes Aquatiques

MEMOIRE DE MASTER

Etude et optimisation de la croissance d'une micro-algue « La Spiruline » sous l'effet de différentes concentrations d'azote et de carbone

Présenté par : **CHAIFAOUI DALILA**

soutenu le : 08/07/2019

Devant le jury composé de :

Présidente :	DJELLOULI. N	MCB	USDB 1
Examinatrice :	RADI. N	MAA	USDB 1
Promotrice :	ABDUL-HUSSAIN. A.S	MCB	USDB 1
Co-Promoteur :	GUENACHI. B	ING	CNRDPA

2018 - 2019

Remerciement

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et ma profonde gratitude à Mme Abdul-Hussain A.S, Maître de Conférence (B), à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de L'université de Blida, de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

Je remercie également mon co-encadreur Mr Guenachi B, Directeur de Station d'aquaculture au niveau de CNRDPA, pour m'avoir encadré durant la période de mon stage de fin d'études et pour son aide et ses conseils.

Je tiens à remercier Mme Djellouli N, Maître de Conférence (B), à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de L'université de Blida, d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance.

Je remercie Mme Radi N, Maître-assistant (A), à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de L'université de Blida, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Sans oublier les membres de ma famille, mes chers parents et mes adorables sœurs pour leur soutien et leurs encouragements.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Professeur Allal- Benfkih. L, responsable du laboratoire de recherche de Plantes Aromatiques et Médicinales, pour son aide précieuse et sa patience.

Mme Hania, Ingénieur de laboratoire de BPC, au niveau de la station, pour sa générosité et son amitié, dont je suis très honorée.

Mme Nadja, ingénieur de laboratoire de recherche de plantes aromatiques et médicinales, pour son comportement admirable et ses conseils.

Mr Abderrahmane, ingénieur de laboratoire de recherche de Biotechnologie végétale, pour son aide précieuse et son extrême gentillesse.

Enfin je remercie mes amies d'hier et d'aujourd'hui : Khadidja, Nefissa, Sanaa, Lynda, Khalida, Farida, Nora, Fatiha, Basma et Radhia.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents

Qui m'ont entouré d'amour et d'attention particulière,

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

A mes chères et très belles sœurs

Houria, Elalia, Amel, Nora, Amina et Rihab

Qui n'ont jamais cessée de me soutenir et de m'épaulées tout au long de mes études.

A mes très chers neveux Mehdi Abdeldjalil et Mohamed islam

A mon adorable nièce Sofia

A toutes les personnes modestes, généreuses et compréhensibles que j'ai rencontrées au cours de ma vie et qui l'ont illuminée par leur amour inconditionnel.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

Résumé

Notre étude porte sur l'optimisation de la croissance de la spiruline dans le milieu Blue-Green Medium (BG11) modifié par ses concentrations en azote et en carbone, ainsi, des paramètres de croissance sont estimés, à savoir ; le taux de croissance spécifique (μ), le temps de doublement (T_d), le taux de division quotidien moyen (K) et la chlorophylle-a (Chlo-a). L'incubation de la spiruline sur les dix milieux de Blue-Green Medium (BG11) modifié, à durée 42 jours et des lectures de la densité optique ont été effectuées tout les 7 jours, les résultats obtenus nous ont permis d'établir deux courbes de croissance (azote et carbone), d'azote, et de calculer nos paramètres de croissance. Les résultats ont révélé des différences significatives entre les dix milieux de Blue-Green Medium (BG11) modifié. La croissance été très importante dans les milieux de BG11 modifié (N2) et (C5). Nous avons enregistré des valeurs maximales dans les milieux suivants : Le Taux de croissance spécifique était 0.24 ± 0.03 cell/jr, 0.23 ± 0.03 cell/jr et 0.23 ± 0.03 cell/jr, dans les milieux de BG11 modifié (C3), (N2) et (N3), respectivement. Le Temps de doublement était 15.15 ± 5.10 cell/jr et 14.81 ± 5.10 cell/jr dans les milieux de BG11 modifié (N3) et (C2), respectivement. Le Taux de division quotidien moyen était 0.15 ± 0.02 divisions/jr dans le milieu BG11 modifié (N4). La Chlorophylle-a était 2.693 ± 0.75 mg/ml dans le milieu BG11 modifié (N2). On peut donc proposer le milieu Bleu-Green Medium modifié pour utilisation à grand échelle pour la culture de la spiruline.

Mots clés : Spiruline, milieu BG11 modifié, azote, carbone, paramètres de croissance.

Abstract

Our study focuses on optimizing spirulina growth in modified Blue-Green medium (BG11) by modifying nitrogen and carbon concentrations. Thus, growth parameters are estimated, which are: the specific growth rate (μ), the doubling time (Td), the mean daily division rate (K) and the chlorophyll-a (Chlo-a). The incubation of Spirulina in ten mediums of modified Blue-Green medium (BG11), with the duration of 42 days and optical density readings were performed every seven days. The results obtained allowed us to establish two growth curves (nitrogen and carbon) and calculates our growth parameters. The results revealed significant differences between the ten mediums of modified Blue-Green medium (BG11). According to the two growth curves, growth was very high in the medium BG11 (N2) and (C5). The specific growth rate was 0.24 ± 0.03 cell / day, 0.23 ± 0.03 cell / day and 0.23 ± 0.03 cell / day, in the modified BG11 (C3), (N2) and (N3) media, respectively. The doubling time was 15.15 ± 5.10 cell/day and 14.81 ± 5.10 cell/day in the modified BG11 (N3) and (C2) media, respectively. The average daily division rate was 0.15 ± 0.02 divisions / day in the modified BG11 medium (N4). Chlorophyll was $2,693 \pm 0.75$ mg/ml in modified BG11 medium (N2). We deduce that modified BG11 medium can be used on a large scale for the cultivation of spirulina.

Key words: Spirulina , modified BG11 medium, nitrogen, carbon, growth parameters.

ملخص

تركز دراستنا على تحسين نمو السبيرولينا في وسط Blue-Green medium (BG11) المعدل، من خلال تعديل تركيزات النيتروجين والكربون ، وهكذا، يتم تقدير مؤشرات النمو، وهي: معدل النمو المحدد (μ)، زمن المضاعفة (Td)، متوسط معدل الانقسام اليومي (K) والكلوروفيل-a (Chlo-a). تمت حضانة السبيرولينا في عشرة وسائط Blue-Green medium (BG11) المعدل لمدة 42 يومًا، وتمت قراءة الكثافة البصرية كل 7 أيام ، والنتائج التي تم الحصول عليها سمحت لنا بإنشاء منحني نمو (النيتروجين و الكربون) و قياس مؤشرات النمو. أظهرت النتائج اختلافات كبيرة بين الوسائط العشرة ل Blue-Green medium (BG11) المعدل. وفقًا لمنحنى النمو، كان النمو مرتفعًا للغاية في الوسطين BG11 المعدل (N2) و (C5). كان معدل النمو المحدد 0.03 ± 0.24 خلية/يوم، 0.03 ± 0.23 خلية/يوم و 0.03 ± 0.23 خلية/يوم في وسائط BG11 المعدل (C3) ، (N2) و (N4) على التوالي. كان زمن المضاعفة 5.10 ± 15.15 خلية/يوم و 5.10 ± 14.81 خلية/يوم في وسائط BG11 المعدل (N3) و (C2) على التوالي. بلغ معدل التقسيم اليومي 0.02 ± 0.147 تقسيم /يوم في الوسط BG11 المعدل (N4). بلغت كمية الكلوروفيل-a 0.75 ± 2.693 ملغ/مل في الوسط BG11 المعدل (N2). إذا، يمكن استخدام وسط Blue-Green medium (BG11) المعدل على نطاق واسع لزراعة سبيرولينا.

كلمات المفتاح: السبيرولينا، الوسط BG11 المعدل، النيتروجين، الكربون، مؤشرات النمو.

Liste des figures

Figure 1 : Cyanobactéries	3
Figure 2: A: <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> , B: <i>Arthrospira platensis</i>	4
Figure 3 : Aires de répartition naturelle de la spiruline	5
Figure 4 : A, B : <i>Spirulina maxima</i> , <i>Spirulina platensis</i> , C : morphologie de la spiruline	7
Figure 5 : Cycle de vie de la spiruline	7
Figure 6 : Spiruline en comprimés	9
Figure 7 : Spiruline en poudre	9
Figure 8 : A : bassin en parpaing revêtus en plastique, B : bassin en bâche plastique.....	11
Figure 9 : Bassins de culture contrôlée de la spiruline à Hawaï.....	12
Figure 10 : Courbe de croissance de la spiruline cultivée dans de BG11 modifié (N1, N2, N3, N4, N5) pendant 42 jrs en fonction de la concentration de l'azot.....	28
Figure 11 : Courbe de croissance de la spiruline cultivée dans de BG11 modifié (C1, C2, C3, C4, C5) pendant 42 jrs en fonction de la concentration du carbone.....	30
Figure 12 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (N1).....	33
Figure 13 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (N2).....	33
Figure 14 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (N3).....	33
Figure 15 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (N4).....	33
Figure 16 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (N5).....	34
Figure 17 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (C1).....	34
Figure 18 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (C2).....	34
Figure 19 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (C3).....	34

Figure 20 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (C4).....	35
Figure 21 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 modifié (C5).....	35
Figure 22 : Temps de doublement chez la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	37
Figure 23 : Taux de division quotidien moyen de la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	39
Figure 24 : Courbe présentant l'évolution de la chlorophylle-a chez la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	41
Figure 25 : A : des trichomes de spiruline avec des spires qui varient entre 2 et 9, B : un trichome de spiruline avec 9 spires et C : un trichome de spiruline avec 7 spires	43

Liste des tableaux

Tableau I : Les produits de cyanobactéries.....	8
Tableau II : Composition chimique de la spiruline.....	8
Tableau III : Analyse typique de 100 gramme de spiruline.....	9
Tableau IV : Domaines d'application de la spiruline.....	13
Tableau V : Composition de Blue-Green medium (BG11).....	21
Tableau VI : Attribution de symbole de temps (t) aux périodes d'incubation par nombre de jour.....	24
Tableau VII : Croissance de la spiruline cultivée dans les milieux de BG11 modifié (N1, N2, N3, N4 et N5) pendant 42 jrs	27
Tableau VIII : Croissance de la spiruline cultivée sur les milieux de BG11 modifié (C1, C2, C3, C4 et C5) pendant 42 jrs	29
Tableau IX : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	32
Tableau X : Temps de doublement chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	36
Tableau XI : Taux de division quotidien moyen de la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	38
Tableau XII : Teneurs de chlorophylle-a (mg/ml) chez la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.....	40

Liste des graphes

Graphe 1 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey pour l'effet de l'azote sur la croissance de la spiruline.....	29
Graphe 2 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey pour l'effet du carbone sur la croissance de la spiruline.....	31
Graphe 3 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey pour le taux de croissance spécifique de la spiruline.....	36
Graphe 4 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey pour le temps de doublement de la spiruline.....	38
Graphe 5 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey pour le taux de division quotidien moyen de la spiruline.....	40
Graphe 6 : Seuil de signification de test ANOVA/Tukey concernant la teneur en chlorophylle-a de la spiruline.....	42

Liste des symboles et des abréviations

ANSES : l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

cell/jr : cellule/jour

Chlo-a : Chlorophylle-a

DO : densité optique

E.T : Ecartype

GLA : Acide Gamma Linoléinique

IgE: Immunoglobuline E

Jr(s): jour(s)

M : molarité

min : minute

ONG : Organisations Non Gouvernementales

t : temps

rpm : tour par minute

Glossaire

Macrolides : Molécules à propriétés antibiotiques

Cyanobiontes : Cyanobactéries

Nécrie : Est une cellule particulière d'un trichome de cyanobactéries qui finit par s'altérer ce qui provoque la scission du trichome en deux.

Hormogonies : Chez les cyanobactéries, une hormogonie identifie la partie de filament qui se détache pour donner un nouvel individu. Autrement exprimé, c'est un fragment pluricellulaire d'un trichome de cyanobactérie, apparaissant à la faveur de la gélfication de cellules spéciales appelées nécries.

Nutraceutiques : Un aliment nutraceutique est un produit isolé ou purifié à partir d'aliments, il est habituellement vendu sous formes galéniques comme des capsules qui ne sont pas généralement associées à des aliments, et il a été démontré qu'il avait un effet physiologique bénéfique ou assurait une protection contre les maladies chroniques.

Halophile : Un organisme halophile, est un organisme qui s'accommode ou a besoin de fortes concentrations en sel dans son milieu pour vivre.

Photolithotrophie : Photo-autotrophie

Thylakoïdes : Saccules aplatis, prolongement de la membrane interne du chloroplaste, on distingue les thylakoïdes granaires, vésicules de petites tailles empilées en grana et les thylakoïdes inter-granaires (ou stromatiques) de grandes tailles, réunissant les grana entre eux. Chez les algues les grana sont totalement absents et les thylakoïdes apparaissent séparés les uns des autres, ou accolés sur toute leur longueur et groupés par trois le plus souvent.

Procaryote : Organisme unicellulaire qui ne possède ni noyau ni organites cellulaires organisés.

Hétérocystes : Cellules intercalées de place en place entre les cellules banales de certaines cyanophycées filamenteuses. Caractérisée par l'absence de pigments, par un contenu très clair et par une paroi épaisse.

Trichomes : Rangée de cellules en contact étroit par une grande surface de contact.

Pitch (Pas) : Similaire à la longueur d'onde. C'est la distance entre deux sommets du trichome. Le pas peut être compris entre 7 et 50 μm .

Length (Longueur de la colonie) : Longueur de la colonie entière, est généralement de 20 à 300 nm. La spiruline récoltable a généralement une longueur de 60 à 200 nm.

Diamètre : C'est la largeur des cellules individuelles du trichome. Le diamètre est généralement de 4-7 nm.

Table de matière

Résumé.....	IV
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux.....	IX
Liste des graphes.....	X
Liste des symboles et des abréviations.....	XI
Glossaire.....	XII
Introduction.....	1
PREMIÈRE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA SPIRULINE.....	3
1/ Les cyanobactéries	3
2/La spiruline.....	4
2.1/Histoire de la spiruline.....	4
2.2/ Répartition géographique.....	5
2.3/Taxonomie de la spiruline.....	5
2.4/ Morphologie de la spiruline.....	6
2.5/ Cycle biologique.....	7
2.6/Toxicité.....	8
2.7/ Composition chimique de la spiruline.....	8
3/Culture de la spiruline.....	10
3.1/ Milieu naturel de la spiruline.....	10
3.2/Culture artisanale.....	10
3.3/Culture industrielle.....	11
3.4/ Production de la spiruline en Algérie.....	12
4/ Domaines d'application.....	12
CHAPITRE II : CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE LA SPIRULINE.....	15

1/ Facteurs influençant la croissance de la spiruline.....	15
2/Sels minéraux essentiels pour le développement de la spiruline.....	16
2.1/Carbone	16
2.2/Azote	16
3/Photosynthèse (développement de la biomasse.....)	16
4/Effets de l'azote et de carbone sur la croissance et la vitesse de développement de la spiruline.....	17
4.1/ Fixation de l'azote.....	17
4.2/Fixation de CO ₂	18
CHAPITRE III: Intérêt socio-économique de la spiruline.....	19
1/ intérêt sanitaire et social.....	19
2/ intérêt économique.....	19
3/La spiruline comme aliment de substitution.....	20
4/La spiruline contre la malnutrition.....	20
5/La spiruline comme complément alimentaire.....	20
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.....	19
1/MATERIEL.....	21
1.1/Matériel biologique.....	21
1.2/Milieu de culture.....	21
2/METHODES.....	22
2.1/Etapes de préparation des milieux de culture de la spiruline.....	22
2.2/ensemencement.....	23
2.3/Conditions d'incubation.....	23
2.4/ Mesures de croissance.....	24
2.4.1/ Estimation du poids sec initial (PSi).....	24
2.4.2/croissance de la spiruline en fonction de la concentration de l'azote et du carbone	24

2.4.3/Estimation de taux de croissance spécifique.....	24
2.4.4/ Estimation de Temps de doublement.....	25
2.4.5/Estimation de taux de division quotidien moyen.....	25
2.4.6/Estimation de la chlorophylle-a.....	25
2.5/ Observation microscopique.....	26
2.6/Analyses statistiques.....	26
CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION.....	27
2/Mesures de croissance.....	27
2.1/Poids sec initial (PSi).....	27
2.2/ Croissance de la spiruline en fonction de la concentration de l'azote et du carbone	27
2.2.1/ Croissance de la spiruline en fonction de la concentration de l'azote	27
2.2.2/ Croissance de la spiruline en fonction de la concentration du carbone.....	29
2.3/Taux de croissance spécifique.....	32
2.4/Temps de dédoublement.....	36
2.5/Taux de division quotidien moyen.....	38
2.6/Chlorophylle-a.....	40
2.7/Observation microscopique.....	43
Conclusion générale.....	44

Références bibliographique

Annexes A

INTRODUCTION

La spiruline est un microorganisme photosynthétique, considérée comme un moyen efficace pour produire des composés de grande valeur économique et scientifique (**Jeon et al., 2005 in Castro et al., 2014**).

La spiruline, a fait l'objet de recherches approfondies, principalement comme nourriture et complément alimentaire pour homme et animaux (**Gershwin et Belay, 2007**). La croissance de la spiruline et la composition de la biomasse produite dépendent de nombreux facteurs, les plus importants étant la disponibilité des éléments nutritifs, la température et la lumière (**Cornet et al., 1992 in Medkour et al., 2012**).

Sa valeur nutritionnelle fut confirmée en 1974, par la conférence mondiale de l'alimentation des Nations Unis, qui la considère comme une ressource alimentaire d'importance majeure pour l'avenir (**Batello et al., 2005**).

Les micro-algues ont la capacité à capter le CO₂ et à le convertir en oxygène et en biomasse, le potentiel de cette dernière, est traduit par la production d'énergie renouvelable comme les biodiesels et les biogaz. Elles ont aussi la capacité de synthétiser des molécules bioactives qui peuvent être utilisées dans les aliments, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques, telles que les caroténoïdes, les acides gras et autres composés organiques (**Ferreira et al., 2013 in Rosa et al., 2015**).

Autant qu'organismes photosynthétiques et producteur de biomasse précieuse, apportant une grande valeur alimentaire, en raison de sa teneur élevée en protéine de haute valeur, en acides aminés, en acides gras essentiels (GLA), en vitamines, pigments et oligo-éléments, d'une part, et de son utilisation dans différents secteurs industriels (santé, nutrition et énergie), d'une autre part, la spiruline est considérée comme un processus biologique participant à l'atténuation du réchauffement climatique en absorbant le dioxyde de carbone d'origine anthropique (**Fernandes da Silva et al., 2016**).

Outre sa production commerciale, *Arthrospira* a toujours un rôle important en tant que nourriture dans l'économie de certains pays Africains. Il a été envisagé d'utiliser la spiruline (*Arthrospira platensis*) dans la lutte contre la malnutrition, qui sévit dans de nombreux pays en voie de développement (**Coz, 2011**).

Les personnes à la recherche de sources nutritionnelles alternatives, aliments naturels « BIO », sont de plus en plus nombreuses dans le monde, leurs exigences font qu'il ya une ouverture marquante sur la production et la commercialisation des algues, les micro-algues, elles, font l'exception et la Spiruline est l'un des aliments les plus incontournables, sa consommation passée et récente par d'innombrables populations autour du monde, lui à confier un rôle majeur dans la sécurité alimentaire. D'un point de vue, d'une large consommation et d'une grande production mondiale, nous nous demandons, quel intérêt socio-économique la spiruline pourra-t-elle apporter à l'humanité ? Et est-ce que la spiruline contribuera-t-elle de façon intransigeante dans l'amélioration de la vie quotidienne de l'homme, ou dans son développement économique ?

A la recherche d'une source alimentaire riche en protéine produite localement pour des utilisations internes dans la recherche scientifique et le développement économique, le Centre National de la Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA), réalise des expérimentations qui visent à cultiver de la Spiruline (genre *Arthrospira*) à grande échelle (espèce autochtone découverte dans des milieux lacustres) afin de développer le domaine de l'aquaculture.

Notre étude, à pour but d'optimiser la croissance de la spiruline dans le milieu de culture Blue-Green medium (BG11) en utilisant une large gamme de concentrations d'azote et de carbone, en modifiant les concentrations de nitrates de sodium (NaNO_3) et de carbonates de sodium (Na_2CO_3) pour obtenir dix milieux de BG11 modifié, permettant d'effectuer des mesures de croissance, à savoir ; le taux de croissance spécifique (μ), le temps de doublement (T_d), le taux de division quotidien moyen (K) et la chlorophylle-a (Chlo-a).

« Le savoir est la seule fortune qu'on peut dépenser sans perdre » (Proverbe Africain).

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LA SPIRULINE

La spiruline utilisée en nutrition humaine est la biomasse commerciale séchée de deux cyanobactéries, espèces traditionnellement appelées *Spirulina platensis* et *Spirulina maxima*, qui appartiennent au genre *Arthrospira spp* (Stanic-Vucinic et al., 2018).

La spiruline fait partie des algues alimentaires les plus incontournables, ces vertus nutritionnelles, sont ceux d'un aliment complet et équilibré (Arzel et Barbaroux, 2010).

1/ Les cyanobactéries

Il ya 3.7 milliards d'années, les premiers végétaux chlorophylliens étaient déjà présents sur terre, ils proliférèrent dans tous les milieux aquatiques de la planète. Les algues bleues ou cyanobiontes furent les premiers organismes à produire de l'oxygène, et contribuèrent à baisser l'acidité de l'eau de mer, facilitant ainsi l'expansion de la vie (Pérez, 1997).

Elles sont classées dans le règne des Eubacteria et représentent le seul groupe de procaryotes (Fott, 1971 in Reviere, 2003) qui ne comprend que la seule classe de Cyanophycées (Gayral, 1975), elles se séparent des bactéries par la présence de chlorophylle-a, et de pigments accessoires (Bourrelly, 1970).

Les cyanobactéries se présentent généralement sous forme de fins filaments (figure 1) contenant un pigment qui leur confère une couleur bleue (du grec « cyano », « cyan »), elles peuvent modifier la couleur des eaux et peuvent être toxiques pour les mammifères, et pour l'homme en particulier. La spiruline est l'une des rares cyanobactéries non toxiques (Mollo et Noury, 2013).

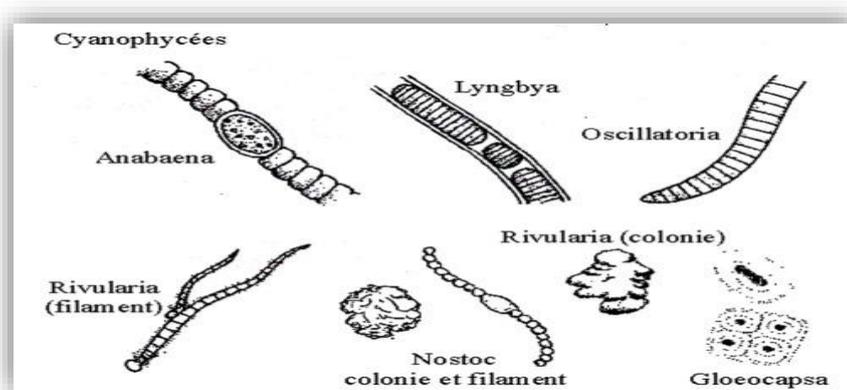


Figure 1 : Cyanobactéries. (Site web 1).

Leur multiplication s'effectue principalement par division cellulaire (Reviere, 2003) où les cellules vont tout simplement se diviser en deux et qui ressemblent à la cellule mère (Floc'h et Lecler, 2010).

Les cyanobactéries se rencontrent dans des habitats extrêmement variés, elles sont susceptibles de supporter des conditions impressionnant (zones froides ou chaudes, eaux douces ou salées, à la surface des sols et des eaux polluées). Elles ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique par la présence des cellules spécialisées dites hétérocystes et fixe le gaz carbonique comme les plantes pour produire l'oxygène (Reviers, 2003).

2/La spiruline (*Arthrospira spp*)

La spiruline (**figure 2**), longtemps considérée comme une micro algue bleue, est en réalité une cyanobactérie (Cruchot, 2008), d'eau douce ou saumâtre, dont la couleur caractéristique bleu-vert est due à un pigment protéique rare : la phycocyanine (Debleds, 2015). Elle est pourvue de vésicules gonflées de gaz, qui lui permettent de flotter sur l'eau (Doumenge et al, 1993).

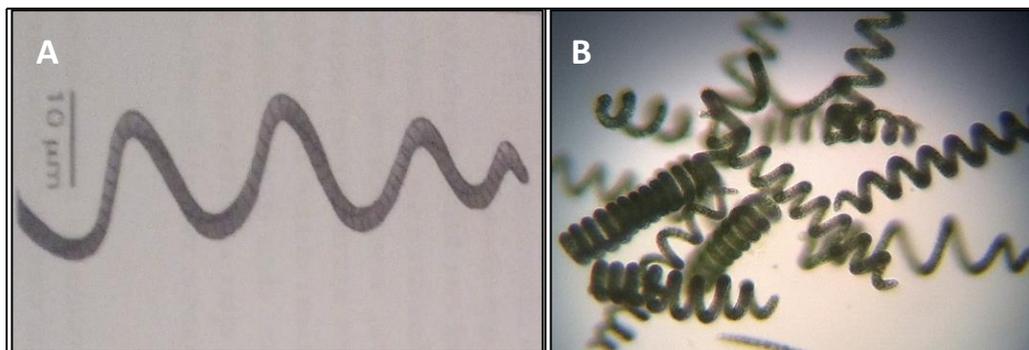


Figure 2: A : *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Riviers, 2003).

B : *Arthrospira platensis* (Siteweb 2).

2.1/Histoire de la spiruline

Au 16ème siècle, les peuples Aztèques (Mexique) consommaient la spiruline ou le tecuitlatl dans leur alimentation courante (Sguera, 2008). En 1931, Rich observait des populations de flamants, au bord des lacs de la Rift Valley en Afrique orientale, dont la principale source de nourriture était la spiruline (Doumenge et al, 1993).

La spiruline, ou *Arthrospira*, a été redécouverte Au milieu des années 1960. Appelé dans le dialecte local « dihé », était consommée par la tribu des Kanembu vivant le long des lacs alcalins du Tchad et du Niger, au même moment, à la demande de la société Sosa texcoco, une étude systématique et détaillée des exigences de croissance et de la physiologie de la spiruline a été réalisée par l'Institut Français du Pétrole, dans un lac, près de la ville de Mexico (Vonshak, 1997).

Dans les pays développés, son véritable essor n'est apparu qu'à partir des années 90 lors de la découverte de molécules actives comme la phycocyanine ou le calcium-spirulan (Sguera, 2008).

2.2/répartition géographique

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud (**figure 3**). Typiquement : le lac Tchad, les lacs mexicains et les mares des abords de Tuléar à Madagascar (**Debledes, 2015**).

Elle se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (**Castenholz et al., 2001 in Charpy et al., 2008**).

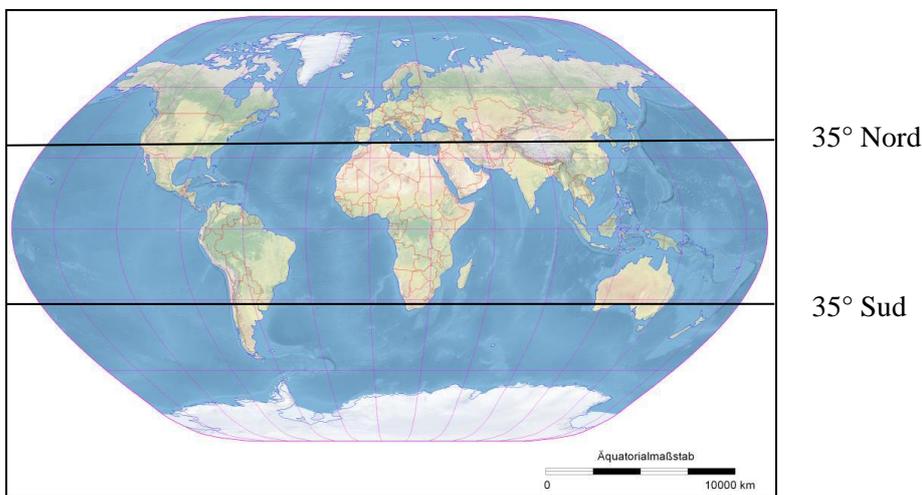


Figure 3 : Aires de répartition naturelle de la spiruline (**Site web 3**).

2.3/Taxonomie de la spiruline

La spiruline, appartient au monde végétal de par sa chlorophylle, et au monde animal de par ses cellules procaryotes apparentées à celles des bactéries. Cette double liaison contribue à lui donner quelques particularités originales intéressantes et la classe parmi les cyanobactéries (**Doumenge et al., 1993**).

Le mot « spirulina » est le nom commerciale anglophone du genre *Arthrospira*, a ne pas confondre avec le genre *Spirulina* non comestible, considérée également comme genre de cyanobactérie (exemples : *Spirulina subtilissima*, *Spirulina princeps*) (**Fox, 1999**). Pour distinguer l'*Arthrospira* de la *Spirulina* non comestible, l'approche morphologique n'est pas suffisante en raison de la plasticité morphologique qui existe entre les deux genres, des analyses moléculaires peuvent présenter un outil important contribuant à l'identification des espèces d'*Arthrospira* (exemples : *A. platensis* et *A. maxima*) (**Sili et al., 2012**).

Profil taxonomique : *Arthrospira* sp.

Règne :	Monera (ou Bacteria)
Sous- règne:	Prokaryota
Phylum:	Cyanophyta
Classe:	Cyanophyceae
Ordre:	Oscillatoriales
Famille:	Oscillatoriaceae
Genre:	Arthrospira (ou Spirulina)

Il existe plusieurs espèces qui ne diffèrent globalement que par leur localisation géographique : *Spirulinaplatisensis* est l'espèce africaine principale, *S. geitleri* est celle du Mexique (Arrignon, 2002) et connue aussi sous le nom de *Spirulina maxima* (Vonshak, 1997), *S. lonardi* du lac Lonar en Inde, *S. orovilca* du lac Orovilca, *S. paracas* des bassins d'eau près de Pracas et *S. ventanilla* au Pérou, *S. crater* au Mexique et *S. tamanrasset* en Algérie (Fox, 1999).

2.4/Morphologie de la spiruline

La spiruline se présente comme un filament (trichome) simple Pluricellulaire et de forme hélicoïdale (**figure 4**). Sa morphologie est variable. Quand elle a 7 spires, sa longueur est d'environ 200 à 300 µm et l'épaisseur du filament 10 µm. En outre, elle possède une motilité propre (Euzen et al., 1993). Leurs parois sont Gram négatives (Batello et al., 2005).

Quand les conditions du milieu changent, cette algue montre de très grandes variations dans la morphologie et la taille : élargissement ou rétrécissement de pas de la spire, resserrement des spires centrales de l'hélice, détente du filament et même disparition de la forme spiralée, augmentation du nombre de spires bien au-delà de 50 par arrêt de la division de l'algue qui atteint ainsi plusieurs mm de long (Zarrouk, 1966).

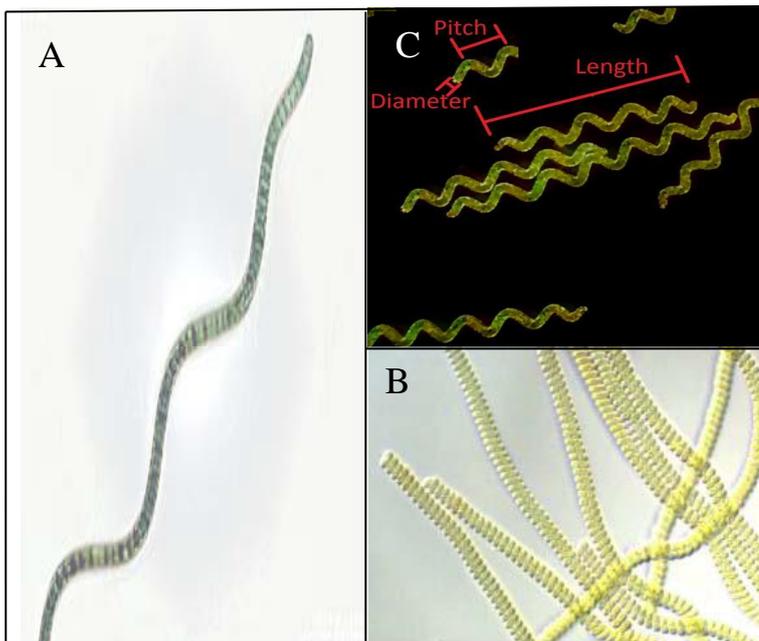


Figure 4 : A, B : *Spirulina maxima*, *Spirulina platensis* (Charpy et al., 2008).
C : morphologie de la spiruline (Site web 4).

2.5/ Cycle biologique

La spiruline se présente sous forme de filaments constitués de cellules juxtaposées, sa reproduction est asexuée (Jourdan, 2018) et se reproduit très rapidement, se divisant trois fois en 24 heures (site web 5). Les spirulines se déplacent à la manière d'une vis s'enfonçant dans du bois (Reviers, 2003).

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies qui vont croître en longueur par division binaire et prendre la forme typique hélicoïdale (figure 5) (Zarrouk, 1966).

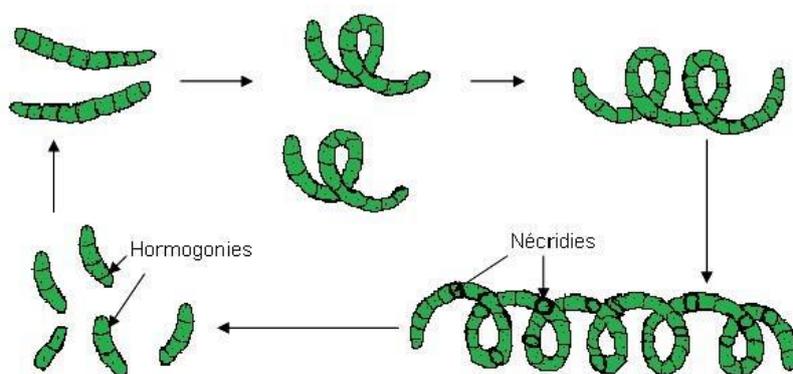


Figure 5: Cycle de vie de la spiruline (Balloni et al. 1980 in Charpy, 2008)

2.6/ Toxicité da la spiruline

La toxicité de la spiruline dépend avant tout de son milieu de vie, qui peut ou non la faire advenir, donc la non dangerosité de la spiruline ne peut être attestée que relativement à des conditions de production et à une espèce donnée, qui devrait impliquer une standardisation des méthodes de culture et des souches (différentes espèces de spiruline sont utilisées) pour une maîtrise de l'interaction être-milieu de vie (**Roux, 2006**).

2.7/Composition chimique de la spiruline

La spiruline, arbore une teneur record en protéines de 70%. Les protéines algales sont d'une grande qualité nutritionnelle (**Floc'h et Leclerc, 2010**). Son exceptionnelle teneur en protéines de haute valeur biologique très digestibles, ainsi que sa composition idéale en vitamines, minéraux et oligo-éléments font d'elle un complément alimentaire intéressant dans le cadre d'une alimentation déficitaire ou déséquilibrée (**Cruchot, 2008**).

Tableau I: Les produits de cyanobactéries (**Singh et Kuar, 2009**).

Produits de Cyanobactéries	Lipopeptides	Acides aminés purs	Acides gras	Macrolides	Amides
taux (%)	42.2	5.6	4.2	4.2	9.4

La teneur en éléments nutritifs dépend de la localisation et de l'environnement dans lequel l'algue se développe (**Khan et al., 2005**).

Les protéines de la spiruline sont complètes, car tout les acides aminés essentiels y figurent, ils représentent 47% du poids total des protéines (**Bujard et al., 1970 in Falquet et Hurni, 2006**).

Tableau II : composition chimique de la spiruline (**ANSES, 2007**).

Composition	Protéines	Glucides	Lipides totaux	Chlorophylle-a
Taux (%. PS)	60-70	14-19	<à 10	1.1-1.5

La composition chimique de la spiruline lui confère des vertus nutritionnelles et biologiques remarquables : anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immunostimulantes (**Vidal, 2008 in Debleds, 2015**).

Tableau III : analyse typique de 100 grammes de spiruline (Umesh, 2002).

Composition	Valeur (g ou mg)
Humidité	7 g
Protéines	71 g
Fibres	0.9 g
Cendre	9 g
Xanthophylle	180 mg
Carotène	190 mg
Chlorophylle	760 mg
Vitamines	
Thiamine (B1)	5.5 mg
Riboflavine (B2)	4 mg
Acide nicotinique (B3)	11.8 mg
Pyridoxine (B6)	0.3 mg
Cobalamine (B12)	0.2 mg
Tocophérol (E)	19 mg
Biotine (H)	0.04 g
GLA (F)	1.3 g
Inositol (acide aminé)	35 mg
Minéraux	
Calcium	132 mg
Phosphore	894 mg
Fer	58 mg
Zinc	3.9 mg

Le produit final commercialisé de la spiruline se présente sous forme de poudre, de flocons, de gélules ou de comprimés d'une intense couleur bleu vert (**figure 6 et 7**). Les doses journalières conseillées varient de 250 à 5 000 mg (**Site web 6**). Elle accumule les métaux lourds tels que mercure et plomb ainsi que les pesticides, il est donc essentiel de s'assurer de son origine et de sa qualité (**Site web 7**).



Figure 6 : Spiruline en comprimés (**Site web 8**)



Figure 7 : Spiruline en poudre (**Site web 9**)

3/Culture de la spiruline

Une culture peut être définie comme un environnement artificiel dans lequel les algues se développent. En théorie, les conditions de culture devraient autant que possible ressembler à l'environnement naturel de l'algue (**Barsanti et Gualtieri, 2006**).

La spiruline est aujourd'hui cultivée dans le monde entier (**Mollo et Noury, 2013**). Les micro-algues originaires d'eaux polluées ne peuvent être consommées directement, lorsque le milieu de culture est « sanitaire » pur, les algues constituent une super nourriture pour l'homme, c'est le cas des spirulines et des chlorelles (**Barnabé, 1989**).

3.1/Milieu naturel de la spiruline

La spiruline a besoin de chaleur (optima =35°C), nécessite de la lumière qui dans la ceinture intertropicale du globe, ne constitue que rarement un facteur limitant dans la journée, et un pH supérieur à 9 (**Batello et al., 2005**).

Le *dihé* (*Spirulina platensis*) croît dans un environnement tout à fait unique et particulier constitué de mares qui se forment à la fin de la saison des pluies au nord-est du lac Tchad. Il s'agit en réalité d'une niche écologique où tout autre organisme peine à survivre telle que *Chlorella* (**Batello et al., 2005**).

3.2/Culture artisanale

Une culture artisanale de la spiruline, a pour but de satisfaire un nombre réduit de personnes, au sein d'une famille, d'une collectivité ou pour des fins humanitaires dans l'espoir de fournir un apport nutritionnel sûr, pour les pauvres, essentiellement les enfants de bas âge souffrant de malnutrition (**Charpy et al., 2004**).

La culture artisanale nécessite certainement la construction de bassins en dehors de zones de pollution (**figure 8**), qui peuvent être soit en bâche plastique ou en dur (béton, parpaings ou briques), pour la culture de la spiruline, l'eau utilisée doit être de préférence potable, de pluie ou de source, avec une salinité de 13 g/l et un pH entre 9 et 11, les engrais ajoutés devraient assurer la croissance des spirulines comme en agriculture habituelle (N, P, K, S, Mg, Ca et Fer), les oligo-éléments (Brome, Zinc, Cobalt et cuivre) sont apportés par l'eau, le sel et les engrais. Le milieu de culture doit rester peu coloré et peu trouble (pauvre en matières organiques) et l'eau de rejet peut être utilisée comme engrais pour les plantes halophiles ou en alimentation animale (**Jourdan, 2018**).



Figure 8: A : bassin en parpaing revêtus en plastique, B : bassin en bâche plastique (Charpy *al.*, 2008).

3.3/Culture industrielle

Contrairement aux cultures conventionnelles, la culture en masse de micro-algues se distingue par: une production continue toute l'année, cycle court, ingénierie génétique simplifiée et possibilité de cultiver des micro-algues dans de l'eau saumâtre plutôt que dans de l'eau douce, qui devient une ressource rare (Vonshak, 1997).

Le succès de l'exploitation commerciale d'Arthrospira, en raison de sa haute valeur nutritive, de sa composition chimique et de la sécurité de sa biomasse, en a fait l'une des plus importantes micro-algues de culture industrielle (Whitton et Potts, 2000).

La culture industrielle de la spiruline est basée sur la recherche scientifique, permettant l'élaboration des protocoles visant à optimiser le milieu de culture afin de maximiser le rendement de la production, en respectant les normes sanitaires et les conditions environnementales saines (Cruchot, 2008).

L'utilisation des photobioréacteurs dans des environnements clos artificiels ou industriels, pour cultiver des micro-algues, a pour objectif de réaliser une transformation biologique de la matière (métabolites à haute valeur ajoutée comme les pigments, les antioxydants, les polysaccharides, des acides gras essentiels) dans des conditions contrôlées :

- Maintenir la stérilité de la culture.
- Surveiller le pH et la température pour une croissance la plus rapide.
- S'assurer qu'il existe un brassage suffisant des cellules et du milieu de culture.
- Contrôler l'intensité lumineuse incidente sur le réacteur, car elle est à la base de la vitesse de production de la biomasse ou de l'oxygène (Cornet, 1998).

La biomasse de spiruline est produite commercialement principalement dans des étangs peu profonds et ouverts. Les plus gros producteurs sont les fermes Earthrise (DIC) en Californie, Cyanotech à Hawaii et DIC à Hainan. La Chine est le principal producteur de spiruline (Henrikson, 2010 in Posten et Walter, 2012).

La production commerciale de biomasse de spiruline repose aujourd'hui presque exclusivement sur des étangs de type « raceway » (circuit de cours) (**figure 10**). Ce système est essentiellement constitué d'un canal à une seule boucle dans lequel la suspension de culture circule en écoulement turbulent par roue à aubes (**Doumenge et al., 1993**).



Figure 9: bassins de culture contrôlée de la spiruline à Hawaï (**Site web 10**).

3.4/production de la spiruline en Algérie

La culture de la spiruline en Algérie est toujours au stade artisanal et expérimental, une ferme pilote est installée au Sud (Tamanrasset) au début des années 2000, fondée par Hiri Abdelkader, connaisseur des processus de production de la spiruline. Un avantage pour les habitants du Sud de pouvoir exploiter et créer des petites entreprises à coût réduit où l'environnement naturel et les conditions climatiques sont propices pour le développement de la spiruline. En attendant des productions à grande échelle de spiruline, l'importation et la commercialisation de cette algue miracle, permet aux Algériens de profiter de ses vertus nutritionnelles et thérapeutiques (**Site web 11**).

4/Domains d'application

Le rôle multifonctionnel de l'espèce *Spirulina* en fait un médicament naturel idéal doté d'immenses propriétés prophylactiques et thérapeutiques (**Khan et al., 2005**). La spiruline est intéressante pour l'alimentation animale et humaine mais aussi pour la production de pigments caroténoïdes et d'acides aminés essentiels (**Arrignon, 2002**). Les antioxydants et les caroténoïdes représentent d'excellents nutraceutiques. Il a été démontré que la spiruline fournit des bienfaits médicaux ou curatifs (**Bajpai et al., 2013**). Les domaines d'application de la spiruline sont présentés dans le Tableau IV.

Tableau IV : Domaines d'application de la spiruline

Domaines	Rôles/Fonctions	Références
Médical	<p>-Traitements de certaines infections d'origine microbienne et de la malnutrition</p> <p>-Normalisation des IgE chez les enfants des zones radioactives par l'administration de 5g /jr de spiruline pendant 45 jrs.</p> <p>- Combattre les maux tels l'anémie, la chute des cheveux, la fatigue chronique, le relâchement tissulaire, le retard de croissance, le stress ou les troubles de la mémoire.</p> <p>-La C-phycocyanine contient une activité anti-oxydante.</p> <p>-Combattre la malnutrition infantile, traite le diabète et l'obésité, et renforce les défenses immunitaires des séropositifs et la santé des personnes âgées.</p> <p>-Prévention et mitigation du cancer, maladies cardiovasculaires, inflammation et vieillissement.</p>	<p>- Parikh et <i>al.</i>, 2001 in Barry et <i>al.</i>, 2014 in Kanon et <i>al.</i>, 2016</p> <p>- Belay, 2002</p> <p>-Arzel et Barbaroux, 2010</p> <p>- Chen and <i>al.</i>, 2014</p> <p>-Debleds, 2015</p> <p>- Gershwin et Belay, 2007</p>
Nutrition	<p>-Apporte un soutien nutritionnel (richesse biochimique ; protéines).</p> <p>- Extrêmement digestible, source d'énergie, faible en calories et en gras.</p> <p>-source d'acides gras polyinsaturés (GLA).</p> <p>-Nourriture pour les cultures de zooplancton , de poissons et de mollusques.</p> <p>-Complément alimentaire dans les élevages bovins, canins ou de volailles.</p>	<p>-Ak et <i>al.</i>, 2016</p> <p>-Umesh, 2002</p> <p>-Vonshak, 1997</p> <p>- El-Kassas et <i>al.</i>, 2015</p> <p>-Debleds, 2015</p>

Domaines	Rôles/Fonctions	Références
Energie	<p>-Biofertilisant (cultures de riz, des légumineuses et du coton).</p> <p>- La biomasse de spiruline augmentait de près de deux fois le taux de production de biogaz pour une quantité donnée de déchets.</p>	<p>- Posten et Walter, 2012</p> <p>- Posten et Walter, 2012</p>
Industrie	<p>-Pigments naturels (phycocyanine et phycoérythrine) utilisée dans les industries des produits alimentaires, des médicaments et des cosmétiques.</p> <p>-Composés phytochimiques aux applications pharmaceutiques et biotechnologiques.</p>	<p>-Vonshak, 1997</p> <p>- Le Guehenec, 2009</p>
Autres	<p>-Sport, naturopathie et bien être.</p> <p>-Elimination de la dureté de l'eau.</p>	<p>- Le Guehenec, 2009</p> <p>- Charpy, 2008</p>

CHAPITRE II : CROISSANCE ET DEVELOPPEMENT DE LA SPIRULINE

Les micro-algues, un groupe de microorganismes à croissance rapide, offrent plusieurs avantages, notamment une efficacité photosynthétique supérieure, un taux de croissance élevé et une production de biomasse plus importante à celle des autres cultures énergétiques (Sostaric *et al.*, 2009).

Les algues bleues vivent d'eau, de soleil, de gaz carbonique et de l'azote de l'air. Cela leur suffit pour grandir et se reproduire (Reviere, 2002). Dans les cultures de masse de souches de spiruline, les conditions nutritionnelles sont le facteur clé qui contrôle leur croissance et leur productivité (Madkour *et al.*, 2012).

1/ Facteurs influençant la croissance de la spiruline

La vitesse de croissance de la spiruline est directement influencée par le pH et la température, et son maximum s'observe entre 35 et 37°C (Niangoran, 2017).

1.1/ La température

La température idéale pour pousser est 37° C, au-dessus de ces limites (43°C), la spiruline risque de mourir, à 20°C, sa multiplication s'arrête. Dans les zones froides les bassins de cultures doivent être recouverts de serres (Jourdan, 2018).

1.2/ Le pH

Le pH doit être au moins 9, s'il est trop bas la culture risque de mal démarrer, avec formation de grumeaux ou précipitation de la spiruline au fond du bassin. (Jourdan, 2018). Il joue un rôle important dans les activités métaboliques des spirulines, il affecte fortement la production de biomasse, la dissociation de produits chimiques et la physiologie cellulaire (Ogbonda *et al.*, 2007 in Sharma *et al.*, 2014, Celekli *et al.*, 2009 in Sharma *et al.*, 2014).

1.3/ La lumière

La lumière est un facteur important dans la croissance des micro-algues, elle nécessaire pour la photosynthèse. Une limitation ou un excès de lumière peut donc avoir des conséquences sur le métabolisme des cellules (décomposition des cellules) et de leur croissance, donc la qualité et la quantité de lumière influencent la croissance et la physiologie de la spiruline (Niangoran, 2017).

1.4/ L'agitation

L'agitation du milieu de culture permet une bonne répartition de la lumière et favorise les échanges gazeux (élimination du dioxygène et absorption du gaz carbonique) (Niangoran, 2017).

La fréquence d'agitation est aussi un paramètre important, une agitation discontinue et énergique est préférable à une agitation continue mais faible. L'agitation continue des cultures à petit récipients (bouteilles, seaux ou bassines), se fait au moyen d'un petit bullage d'air comme dans un aquarium (Jourdan, 2018).

2/ Sels minéraux essentiels pour le développement de la spiruline

De nombreux éléments doivent être fournis pour la croissance de la Spiruline, telle que carbone (C), oxygène (O), hydrogène (H), azote (N), potassium (K), calcium (Ca), magnésium (Mg), fer (Fe), soufre (S) et phosphore (P) (Xin et al., 2010 in Nyabuto et al., 2015).

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux contenant de carbonates de sodium (Na_2CO_3) ou de bicarbonates de sodium (NaCO_3), et riches en azote et en phosphore (Fox, 1999).

2.1/ Azote

Les cyanobactéries peuvent s'approvisionner à volonté en azote gazeux d'origine atmosphérique, après dissolution dans l'eau. L'azote intervient dans les groupements aminés des protéines (Menesguen, 2018).

La spiruline contient 12% d'azote en poids, l'atmosphère en contient 78%. Cet azote n'est généralement pas utilisable pour la photosynthèse, il doit d'abord être fixé à d'autres atomes : NH_3 (ammoniac), NO_2 (nitrite), NH_3 (nitrate), $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (urée) (Fox, 1999).

2.2/Carbone

La spiruline contient 47% de carbone, il en faut donc un apport important pour obtenir une croissance rapide. Dans les lacs naturels le carbone provient soit de carbonates volcaniques, soit de gaz carbonique atmosphérique (Fox, 1999).

La spiruline demande un milieu alcalin, le pH optimum d'une culture florissante va de 9.5 à 10.5, quand le pH dépasse 10.5 l'apport de CO_2 est insuffisant pour compenser le prélèvement par les algues et la culture est dite limitée par le CO_2 . L'apport de CO_2 abaisse le pH et fournit du carbone pour continuer la croissance. On peut augmenter la surface effective du bassin et du coup la vitesse d'absorption du gaz carbonique en créant des vagues ou des anomalies de surface (Fox, 1999).

3/Photosynthèse (développement de la biomasse)

3.1/Activité photosynthétique des micro-algues

La photosynthèse est un processus bioénergétique utilisé par les plantes terrestres ainsi que les microorganismes photosynthétiques (notamment les algues). Elle se compose d'une série de réactions complexes d'oxydoréduction durant laquelle l'énergie lumineuse, sous forme

d'énergie électromagnétique, est absorbée par des pigments, principalement la chlorophylle, et est convertie en énergie chimique entraînant la production d'oxygène et des sucres ainsi que d'autres métabolites secondaires. Elle se déroule essentiellement dans les membranes des thylakoïdes. Ce phénomène est régi par l'équation suivante (Farineau et Morot-Gaudry, 2018) :



La photosynthèse se décompose essentiellement en deux étapes :

- une première réaction dite « phase claire » durant laquelle une réaction photochimique d'oxydation par fractionnement de l'eau se produit (Farineau et Morot-Gaudry, 2018). selon la réaction suivante:



- La seconde « la phase sombre », décrite par la fixation du carbone selon le cycle de Calvin (Farineau et Morot-Gaudry, 2018).

4/ Effets de l'azote et de carbone sur la vitesse de croissance et le développement de la spiruline

La croissance d'un organisme vivant est définie comme une augmentation de masse ou de taille accompagnée de la synthèse de macromolécules, conduisant à la production d'une structure nouvellement organisée (Healy et Henzdel, 1976).

Dans des milieux totalement minéraux, Les spirulines montrent une vitesse de croissance très importante (Falquet et Hurni, 2006).

4.1/ Fixation de l'azote

Les cyanobactéries transforment l'azote moléculaire atmosphérique en composés tels que l'ammoniac, qui sont en partie directement transformés en protéines, en acides aminés et autres cellules contenant de l'azote (Barsanti et Gualtieri, 2006).

L'ammoniac est directement utilisé pour synthétiser les acides aminés tandis que les autres sources d'azote doivent être converties en ammoniac pour synthétiser l'acide aminé. (Junying et al., 2013 in Nyabuto et al., 2015). La source et la concentration d'azote affectent également l'accumulation de lipides dans la Spiruline (Xin et al., 2010 in Nyabuto et al., 2015).

Certaines algues bleues peuvent fixer l'hydrogène à l'azote de l'air pour faire de l'ammoniac NH_3 , grâce à des cellules spécialisées, les hétérocystes. La spiruline étant dépourvue d'hétérocystes, elle ne fixe pas de l'azote atmosphérique. La source la plus facile à employer est le nitrate, de sodium ou de potassium (NaNO_3 ou KNO_3) (Fox, 1999).

4.2/ Fixation de CO₂

La fixation du CO₂ entraîne principalement la formation de biomasse structurale des cyanobactéries, de plus, la concentration élevée en bicarbonate-carbonate favorise la productivité élevée observée dans l'habitat naturel d'*Arthrospira* (**Witton et Potts, 2000**).

Le gaz carbonique de l'atmosphère se fixe très facilement sur les saumures à pH élevé durant la nuit en particulier pendant laquelle la photosynthèse ne fonctionne pas, et ainsi se rétablissent les conditions optima de production du milieu de culture de la spiruline (**Doumenge et al., 1993**).

CHAPITRE III : INTERET SOCIO-ECONOMIQUE DE LA SPIRULINE

Pendant longtemps, les cyanobactéries étaient considérées comme étant des micro-organismes nuisibles à l'environnement. Récemment, la recherche a démontré leur utilisation économique positive grâce à la spiruline (Singh et Kuar, 2009).

La spiruline n'a pas la même importance pour les pays du sud et celles des pays du nord. Pour les premiers, elle représente un intérêt dans la lutte contre la malnutrition. Dans le second cas, elle ne représente jusqu'alors qu'un complément alimentaire de confort (Cruchot, 2008).

1/Sécurité alimentaire et sociale

Le *dihé* (*Spirulina patensis*) offre des potentialités considérables en matière de sécurité alimentaire, de même que des perspectives financières, surtout pour des femmes qui récoltent traditionnellement le *dihé* et qui sont parmi les membres de la société les plus négligés (Batello et al., 2005).

Les organisations humanitaires, aident de nombreux villages à créer leurs fermes de culture de spiruline. Au Burkina Faso, par exemple, l'installation d'une ferme a permis à la fois de rééquilibrer l'alimentation des enfants de village et de fournir de travail pour les adultes. En plus le projet s'avéré rentable, les deux tiers de la production ayant pu être vendus, à un prix abordable à la population locale (Mollo et Noury, 2013).

2/Intérêt économique de la spiruline

La spiruline intéresse beaucoup de petites entreprises qui la fabriquent dans des réacteurs et la vendent comme compléments alimentaires sous forme de gélules aux habitants de pays riches en tirant de gros profits (Feillet, 2012).

Elle est aujourd'hui en exploitation dans de nombreux pays, avec 8000 tonnes de poudre séchée produite annuellement : Japon, Thaïlande, Inde, Australie, France, Cuba, Brésil, Afrique du Sud ainsi que beaucoup d'autres pays. Elle est vendue localement en Afrique entre 20 € et 28 € le kilo, dans les pays développés à 150 € le kg sous formes de paillettes, à 200 € le kg sous formes de comprimés et à 500 € le kg sous formes de gélules (Debleds, 2015).

12 000 tonnes de biomasse de spiruline sont produites chaque année (à environ 30 US\$/kg), dont 70% environ en Chine, en Inde et en Taiwan, contre 5000 tonnes/an de chlorelle produite dans le monde entier (Garcia et al., 2017).

3/La spiruline comme aliment de substitution

Il est certain qu'un des problèmes majeurs des prochaines décennies sera de faire face à l'expansion démographique, en produisant des quantités importantes de matières protéiniques (Euzen *et al.*, 1993).

La dose souhaitable est de 01g à 05g par personne et par jour selon le cas, ce qui en fait un complément alimentaire et non un aliment de base (Debleds, 2015).

Michel Girin (2017), Biologiste marin, atteste que les produits de l'aquaculture ne peuvent être considérés comme aliments de base, mais plutôt une contribution de diversification alimentaire, telle la spiruline étant riche en protéine, mais sans marché établi.

4/La spiruline contre la malnutrition

La malnutrition est un problème mondial. La population à bas âge est la plus touchée dans les pays en voie de développement dont Madagascar. De sa richesse en micronutriment et sa rapidité de croissance la Spiruline est une solution à la lutte contre ce fléau (Tsarahevitra, 2014). Elle est aisément comestible et assimilable, ce qui en fait un remarquable complément pour réhabiliter les enfants malnutris (Raimondet *al.*, 2013).

La spiruline est capable de traiter avec succès certaines des formes les plus graves de malnutrition telles que les carences en vitamine A, en protéines, en fer et en zinc (Posten et Walter, 2012).

5/La spiruline comme complément alimentaire

La consommation de la spiruline se limitait essentiellement aux populations Kanembou et ne couvre que 10 % des besoins protéiques journaliers (9 à 13 g par personne), et n'est pas meilleur, de ce point de vue, que les autres sauces consommées au Tchad (Raimondet *al.*, 2013).

La spiruline présente des effets régulateurs sur le métabolisme des lipides et des glucides. Il est déjà clair que cet aliment sûr et naturel fournit un soutien nutritionnel concentré pour une santé et un bien-être optimaux (Khan *et al.*, 2005).

L'Arthrospira est principalement vendue sur le marché des additifs alimentaires pour la santé sous forme de poudre ou de pilules. Elle a également été sélectionnée par la NASA et par l'Agence Spatiale Européenne comme l'un des aliments de base pour les missions spatiales à long terme (Sili *et al.*, 2012).

Description du cadre de l'étude

L'actuelle étude a été réalisée au niveau du Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA), à Bou-Ismaïl, Wilaya de Tipaza, sur une durée de 45 jours ; allant de 14/04/2019 à 28/05/2019.

La recherche a été réalisée dans le cadre des essais préliminaires visant à mettre au point des procédures scientifiques finalisées, permettant de cultiver la spiruline de la meilleure des façons, et pour cela nous n'avons pas suivi un protocole déterminé. Nous nous sommes basés sur l'utilisation des expériences tirées à partir de la documentation disponible sur le sujet de recherche et sur le matériel disponible au laboratoire, ce qui a limité notre choix de paramètres de croissance à ceux présentés à travers ce document.

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1/ MATERIEL

1.1/ Matériel Biologique

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est la micro-algue de genre *Arthrospira* sp. communément appelée « la Spiruline », l'espèce est autochtone et n'est pas encore identifiée, fournie par le Centre National de la Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA).

1.2/ Milieu de culture

Nous avons utilisé le milieu Bleu-Green medium (BG11), milieu de référence pour la culture de genre *Arthrospira*. Les composants de milieu BG11 sont présentés dans le tableau V.

Tableau V: Composition de Bleu-Green medium (BG11). (Stanier et al., 1971)

Stocks	Par 500 ml
(1)NaNO ₃	75.0 g
(2)K ₂ HPO ₄	2.00 g
(3) MgSO ₄ .7H ₂ O	3.75
(4)CaCl ₂ .2H ₂ O	1.80
(5)Acide citrique	0.30 g
(6) Ammonium ferrique citrate vert	0.30 g
(7) EDTAN	0.05 g
(8) Na ₂ CO ₃	1.00 g

Stocks	Par litre
(9) solution de métal trace :	
H ₃ BO ₄	2.86 g
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.22
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.08 g
Co(NO ₃)2.6H ₂ O	0.05 g
Medium	Par litre
Solutions stock 1-8	10.0 ml chacun
Solution stock 9	1.0 ml

***Autres matériels** : représentés par des photos (Annexe A)

2/Méthodes

2.1/Etapes de préparation des milieux de culture de la spiruline

2.1.1/Préparation des stocks des milieux BG11 modifié

Nous avons préparé 10 milieux BG11 en modifiant la concentration de deux stocks, le stock 1 et le stock 8, correspondant respectivement, au nitrate de sodium fournissant ainsi de l'azote et au carbonate de sodium comme apport de carbone.

Stock 1 (NaNO₃ (M)) : -BG11 N1: 0.02 M → milieu témoin (BG11 non modifié)

-BG11 N2: 0.005M

-BG11 N3: 0.01 M

-BG11 N4: 0.03 M

-BG11 N5: 0.04 M

Stock 8 (Na₂CO₃ (M)) : -BG11 C1: 0.02 M → milieu témoin (BG11 non modifié)

-BG11 C2: 0.005M

-BG11 C3: 0.01 M

-BG11 C4: 0.03 M

-BG11 C5: 0.04 M

Nous avons préparé 10 bouteilles, soigneusement étiquetées, et introduit dans chacune le volume de 600 ml d'eau distillée, mesurés à l'aide d'une éprouvette graduée, puis ajouté par ordre les composants représentés dans le tableau I, en prenons en considération les modifications apportées sur le stock 1 (N1, N2, N3, N4, N5) et le stock 8 (C1, C2, C3, C4, C5) et bien homogénéisé.

A noter qu'au cours de l'incubation nous n'avons additionné aucun élément nutritif aux 10 milieux de BG11 modifié, ni apporté des changements sur le pH ou la salinité.

2.1.2/Salinité

Nous avons additionné 5‰ de sel de table soit 3g/600ml à chaque bouteille et bien homogénéisé le contenu.

2.1.3/Potentiel hydrogène (pH)

Nous avons mesuré le pH des milieux de BG11 modifié, par lecture directe sur pH-mètre, en introduisant l'électrode dans le milieu de culture. Et nous avons ajustés le pH, à chaque fois été nécessaire par l'ajout de NaOH (0.1 M) afin d'atteindre un optimum de 9 ± 0.2 .

2.1.4/Réalisation de réplias

On a réalisé trois réplias pour chaque milieu BG11 modifié, en introduisant un volume de 200 ml dans des bouteilles en verre de 500 ml, soigneusement étiquetées et bouchées par du coton et de l'aluminium.

2.1.5/Stérilisation par autoclavage

Nous avons stérilisé les milieux BG11 modifié à l'autoclave pendant 20 minutes à 121°C.

2.2/Ensemencement

L'inoculum a été prélevé d'une pré-culture, l'ensemencement doit être effectué dans des conditions stériles, sous une hotte équipée de becs bunsen. Nous avons donc inoculé 1% d'*Arthrospira* soit un volume de 2 ml d'*Arthrospira* dans 200 ml de BG11 modifié.

2.3/Conditions d'incubation

L'incubation de la spiruline nécessite le respect de certaines conditions en relation avec ses exigences de développement, qui sont : pH égal 9 ± 0.2 , température de $30 \pm 2^\circ\text{C}$, une photopériode de 24h/jr de lumière artificielle fourni par des lampes fluorescentes blanches froides (2.3 Klux) et une agitation manuelle de 3 à 4 fois par jour.

2.4/ Mesures de croissance

Le tableau VI expose l'attribution du symbole (t) au nombre de jour relatif à la période d'incubation.

Tableau VI : Attribution de symbole de temps (t) aux périodes d'incubation par nombre de jour

Symbole de temps (t)	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₆
Temps (jr)	7	14	21	28	35	42

2.4.1/Estimation du poids sec initial de la spiruline (PSi)

Nous avons prélevé quatre échantillons de spiruline, le volume de chacun est 1 ml, à partir de la culture mère et les conservés dans des aliquotes, puis on a :

- Centrifugé les échantillons pendant 10 min à 6000 rpm.
- Rincé à l'eau distillée.
- Centrifugé à nouveau pendant 10 min à 6000 rpm.
- Séché les échantillons à l'étuve à 40°C pendant 48 à 72h.

Ensuite, nous avons pesé à l'aide d'une balance de précision, les aliquotes avec la poudre de spiruline, chacune a part, puis rincé le contenu pour pouvoir les peser vide, le poids sec initial de la spiruline (PS_i) est calculé par la soustraction du poids de l'aliquote et on a calculé la moyenne des quatre échantillons pour avoir une valeur significative (PS_i = 7.25 mg/l).

2.4.2/ croissance de la spiruline en fonction de concentration d'azote et de carbone

A partir des cultures, des échantillons de 5 ml ont été prélevés aseptiquement tous les 7 jours et analysés par spectrophotométrie (Jasco V-630 Spectrophotometer) pendant six semaines (42jrs), la croissance à été déterminée par la densité optique à 880 nm (A880) (Oliveira et al., 1999 in Rajasekaran et al., 2016). Afin de réaliser une courbe de croissance.

2.4.3/Estimation du Taux de croissance spécifique (μ)

Le taux de croissance spécifique (μ) intervient dans la description de l'évolution de la croissance de la spiruline en fonction de temps, selon l'équation suivante :

$$\mu \text{ (cellule/jour)} = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1)$$

Où X_1 et X_2 représentent la concentration de biomasse à temps t_1 et t_2 (Oliveira et al., 1999 in Rajasekaran et al., 2016).

2.4.4/Estimation du Temps de doublement (T_d)

Le temps nécessaire pour avoir un doublement du nombre de cellules viables (individu se divisant en 2 individus qui lui sont identiques génétiquement et plus ou moins morphologiquement) est appelé temps de doublement, ce dernier à été estimées par l'équation suivante :

$$T_d = 0.693/\mu$$

Où T_d est le temps de doublement et μ est le taux de croissance spécifique (Dalgaard et Koutsoumanis, 2001 in Rajasekaran et al., 2016).

2.4.5/ Estimation du Taux de division quotidien moyen (K)

Le processus de division quotidien moyen, indique la division d'une cellule de spiruline en deux cellules filles identique, Le taux de division quotidien moyen, K , a été déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$K = 3.3/t \times \log OD_t - \log OD_0$$

Où t est le nombre de jours depuis l'inoculation, OD_t est la densité optique après t jours, OD_0 est la densité optique lorsque $t = 0$ (Dalgaard et Koutsoumanis, 2001 in Rajasekaran et al., 2016).

2.4.6/ Estimation de la Chlorophylle-a

Afin de réaliser une extraction correcte de la chlorophylle-a des cellules d'*Arthrospira* sp. On a adopté le protocole décrit par Mackinney (1941) :

On prend 10 ml de suspension d'algues homogénéisée dans un tube à essai et on effectue une centrifugation à 7 000 rpm / min pendant 15 minutes, puis on élimine le surnageant et on transfère le culot d'algues dans un autre tube à essai et on ajoute 10 ml de méthanol à 90%.

Secouer le contenu et placer les tubes recouverts de papier d'aluminium dans un Bain-marie à 60°C pendant 30 min. L'absorbance du surnageant a été mesurée à 665 nm contre un blanc méthanol (Onkar et al., 2015).

La chlorophylle a été estimée selon l'équation suivante (Mackinney, 1941 in Rai et al., 2015):

$$\text{Chlorophylle-a (mg/L)} = 13.42 \times A_{665}$$

Où A est la densité optique (ou absorbance)

2.5/Observation microscopique

À l'aide d'un microscope optique (OPTICA Axiom 2000), nous avons effectué une observation microscopique de la spiruline cultivée dans de BG11 modifié au 35^{ème} jour d'incubation, au grossissement X40.

2.6/analyses statistiques

Les données ont été analysées statistiquement par le logiciel STATISTICA. Nous avons utilisé, l'analyse ANOVA univariée avec le test de Tukey pour alpha = 5%, pour évaluer la significativité (valeur <0.001), indiquant qu'il ya une différence hautement significative entre les milieux de BG11 modifié. L'analyse ANOVA multifactorielle est réalisée afin de déterminer l'influence de temps sur la teneur en chlorophylle-a chez la spiruline.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DESCUSSION

1/Mesures de croissance

Nous avons suivi et évalué la croissance de la spiruline, par l'estimation de la chlorophylle-a (Chlo-a) en dosant la densité optique de nos échantillons par spectrophotométrie à 665 nm, et l'estimation des : taux de croissance spécifique (μ), temps de doublement (Td) et le taux de division quotidien moyen (K) par le dosage de la densité optique des échantillons à 880 nm, et ce, chaque 7 jrs pendant 42 jrs.

Nous avons entamé notre lecture à partir de 7^{ème} jour d'incubation, la densité optique en t_0 , n'a pas été évaluée.

1.1/ Poids sec initial de la spiruline

Le poids sec initial de la spiruline, prélevée à partir de la culture mère, est estimé à **7.25 mg/l**.

1.2/ Croissance de la spiruline en fonction de la concentration de l'azote et du carbone

Nous avons établi deux courbes de croissance, la première illustre l'évolution de la croissance de la spiruline dans les milieux BG11 modifié (N1), (N2), (N3), (N4) et (N5), correspondant aux différentes concentrations d'azote. La seconde représente l'évolution de la croissance de la spiruline dans les milieux BG11 modifié (C1), (C2), (C3), (C4) et (C5), correspondant aux différentes concentrations de carbone.

1.2.1/Croissance de la Spiruline en fonction de la concentration de l'Azote

Le tableau VII, résume les résultats obtenus par lecture de la densité optique à 880 nm.

Tableau VII: Croissance de la spiruline cultivée dans les milieux de BG11 modifié (N1, N2, N3, N4 et N5) pendant 42 jrs, (Moyenne de DO \pm E.T).

Milieux BG11	BG11 (N1)	BG11 (N2)	BG11 (N3)	BG11 (N4)	BG11 (N5)
Temps (t)					
t ₁	0.033 \pm 0.002	0.036 \pm 0.002	0.031 \pm 0.002	0.029 \pm 0.002	0.031 \pm 0.002
t ₂	0.148 \pm 0.04	0.178 \pm 0.04	0.161 \pm 0.04	0.134 \pm 0.04	0.082 \pm 0.04
t ₃	0.302 \pm 0.14	0.392 \pm 0.14	0.209 \pm 0.14	0.062 \pm 0.14	0.106 \pm 0.14
t ₄	0.249 \pm 0.09	0.261 \pm 0.09	0.229 \pm 0.09	0.092 \pm 0.09	0.090 \pm 0.09
t ₅	0.336 \pm 0.14	0.393 \pm 0.14	0.340 \pm 0.14	0.143 \pm 0.14	0.081 \pm 0.14
t ₆	0.438 \pm 0.07	0.361 \pm 0.07	0.452 \pm 0.07	0.449 \pm 0.07	0.285 \pm 0.07

Du tableau VII, les données ont montré que les valeurs maximales étaient de 0.392 ± 0.14 et de 0.393 ± 0.14 pour le milieu BG11 (N2) qui ont été notés à partir de la 3^{ème} et la 5^{ème} semaines, respectivement.

Quand la concentration de l'azote (NaNO₃) est élevée, la densité optique est basse, ce qui est contradictoire, puisque l'azote est l'un des éléments vitaux pour le développement des végétaux et compris les algues. Selon **Nyabuto et al., (2015)**, L'azote est l'un des éléments essentiels de la croissance, le développement, la reproduction et autres activités physiologiques de la spiruline.

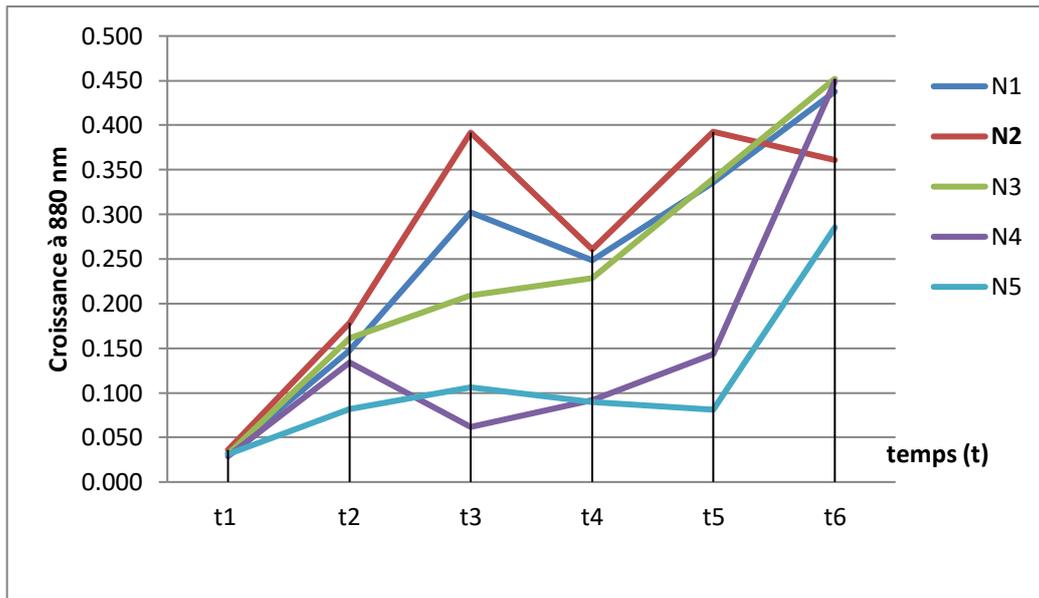


Figure 10 : Courbe de croissance de la spiruline cultivée dans les milieux de BG11 modifié (N1, N2, N3, N4 et N5) pendant 42 jrs en fonction de l'Azote

Le milieu BG11 (N1) (milieu témoin) présente une croissance importante durant les trois premières semaines avec un léger déclin au 28^{ème} jour et à partir de quel la croissance se relance fortement

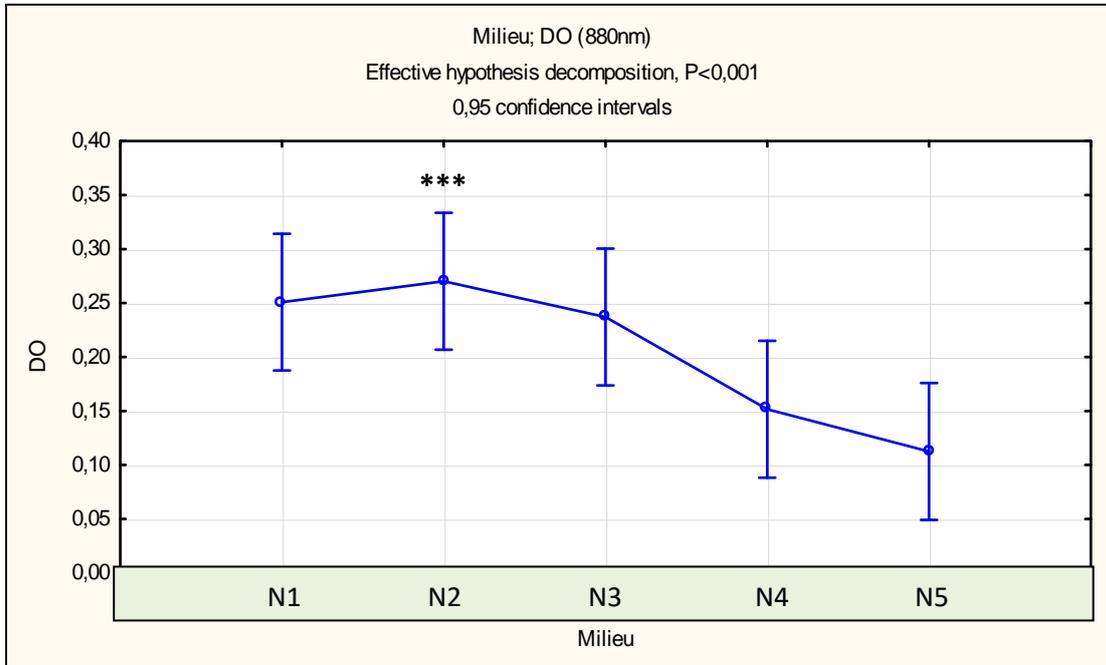
Nous observons que la croissance est moins importante dans les milieux BG11 (N4) et (N5) au cours des premières cinq semaines où les concentrations de nitrates de sodium (NaNO₃) sont plus élevées en comparaison avec les autres milieux de cultures.

La croissance de la spiruline à diminuer dans l'ensemble des milieux de BG11 modifié au cours de la 4^{ème} semaine et cela peut être expliqué par le manque d'agitation des milieux, elle à atteint son maximum à la 6^{ème} semaine dans tout les milieux sauf pour le milieu BG11 (N2).

Nous pensons que la salinité pourrait fortement influencer le développement de la spiruline. Ainsi, 5 g/l de sel, s'avère très insuffisante pour la croissance. D'après **Ittis (1980)**, la teneur en sels dissous devrait variée entre 8,5 et 200 g/l, un développement important de spiruline se produit entre 22 et 60 g/l, et que la densité des peuplements à *S. platensis* est fonction de la salinité ; plus cette dernière est élevée, plus la densité, à l'intérieur des limites de salinité tolérées, est importante.

***Analyse statistique**

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre une influence très hautement significative ($P < 0,001$) des concentrations des différents milieux sur la croissance de la spiruline. Aussi, le graphe 1 de l'ANOVA montre que le milieu (N2) présente le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$, ce qui corrobore parfaitement avec la courbe 1.



Graphe 1 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey pour l'effet de l'Azote sur la croissance de la Spiruline.

1.2.2/ Croissance de la Spiruline en fonction de la concentration du carbone

Le tableau VIII, résume les résultats obtenus par lecture de la densité optique à 880 nm.

Tableau VIII : Croissance de la spiruline cultivée dans les milieux de BG11 modifié (C1, C2, C3, C4 et C5) pendant 42 jrs, (Moyenne de DO \pm E.T).

Milieux BG11	BG11 (C1)	BG11 (C2)	BG11 C3)	BG11 (C4)	BG11 (C5)
Temps (t)					
t ₁	0.041 \pm 0.007	0.028 \pm 0.007	0.026 \pm 0.007	0.034 \pm 0.007	0.043 \pm 0.007
t ₂	0.139 \pm 0.04	0.086 \pm 0.04	0.144 \pm 0.04	0.137 \pm 0.04	0.195 \pm 0.04
t ₃	0.250 \pm 0.05	0.329 \pm 0.05	0.313 \pm 0.05	0.296 \pm 0.05	0.375 \pm 0.05
t ₄	0.345 \pm 0.04	0.241 \pm 0.04	0.278 \pm 0.04	0.291 \pm 0.04	0.251 \pm 0.04
t ₅	0.320 \pm 0.04	0.270 \pm 0.04	0.279 \pm 0.04	0.275 \pm 0.04	0.370 \pm 0.04
t ₆	0.418 \pm 0.04	0.409 \pm 0.04	0.500 \pm 0.04	0.409 \pm 0.04	0.395 \pm 0.04

Nous avons remarqué une croissance importante de la spiruline dans le milieu BG11 (C5) durant les trois premières semaines, illustrée par un pic noté à la 3^{ème} semaine avec 0.375 ± 0.05 et une reprise de croissance notée à partir de la 5^{ème} semaine. Le maximum été observé dans le milieu (C3) avec 0.500 ± 0.004 à la 6^{ème} semaine.

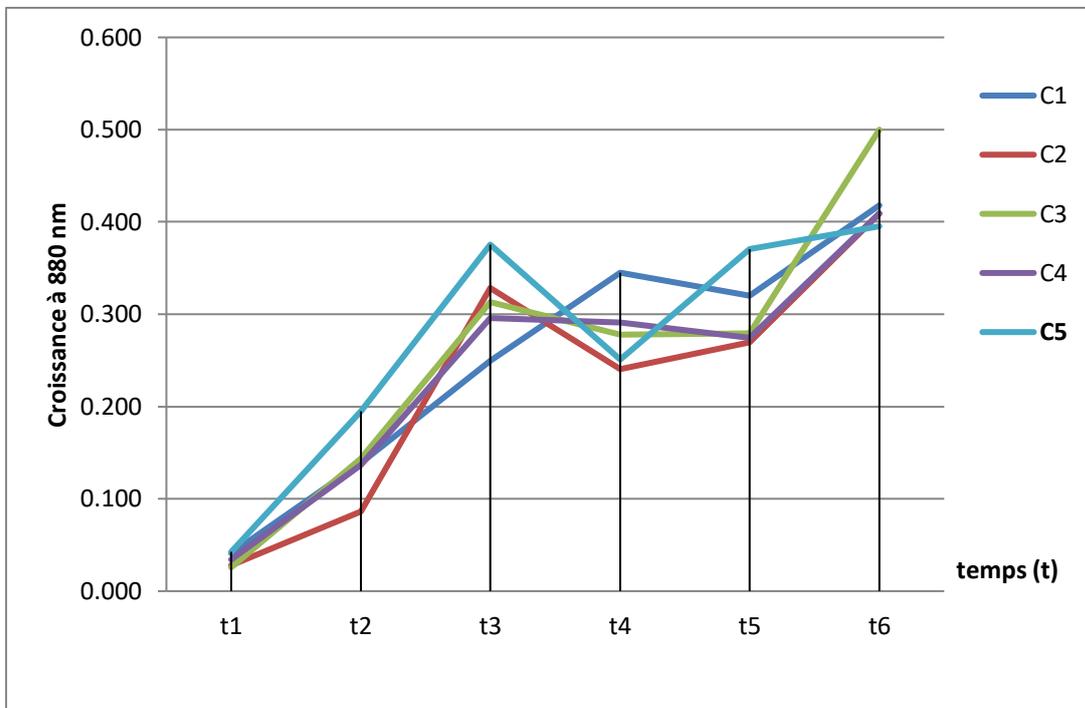


Figure 11 : Courbe de croissance de la spiruline cultivée dans les milieux de BG11 modifié (C1, C2, C3, C4 et C5) pendant 42 jrs en fonction de la concentration du carbone

La courbe de croissance montre que le carbone est un élément essentiel pour le développement de la biomasse de spiruline (activité photosynthétique). La croissance est importante dans les milieux de BG11 modifié (C2), (C3), (C4) et (C5) pendant la 3^{ème} semaine d'incubation.

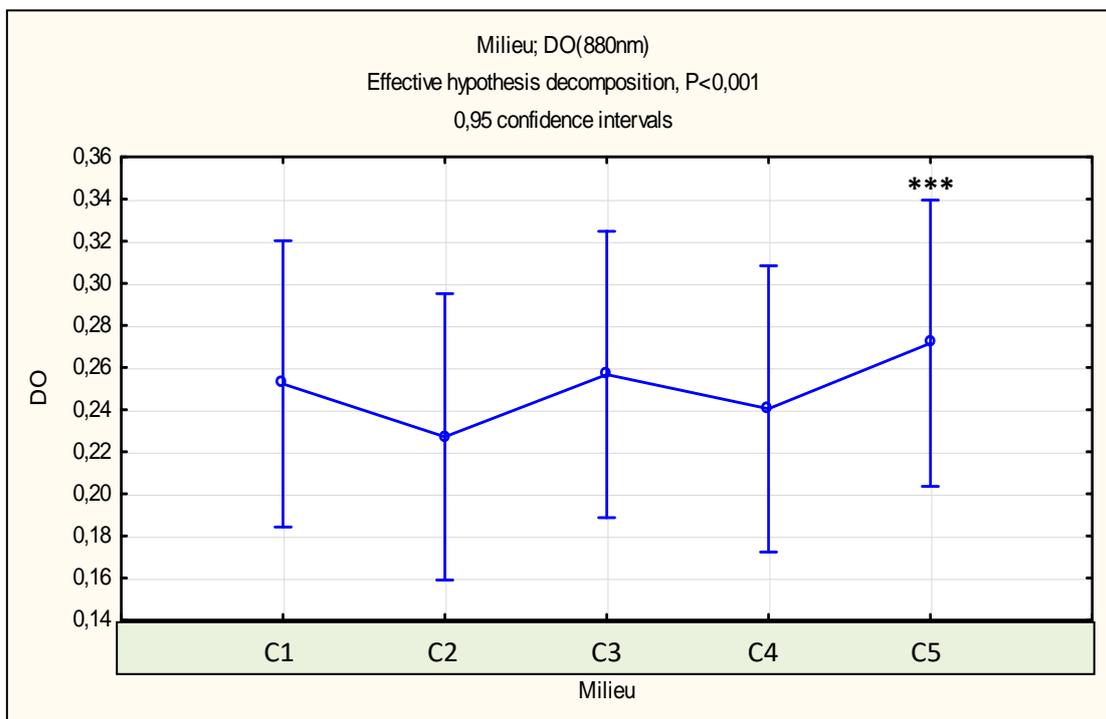
Le déclin de la croissance observé au cours de la 4^{ème} semaine, peut être expliqué par le manque d'agitation des milieux de cultures, ce qui à engendrer un manque d'oxygénation et une formation des agrégats de spirales empêchant le passage de la lumière vers le reste de la culture.

Une exposition continue à la lumière peut être aussi la cause de la diminution de la croissance dans la quasi-totalité des milieux. Selon **Jourdan** (2018), pour augmenter le taux de croissance des spirulines, il vaut mieux ne pas les soumettre à plus de 16 heures d'éclairément par jour.

On a aussi observé que la croissance était continue dans le milieu BG11 (C1) (milieu témoin) pendant les quatre premières semaines, avec un léger déclin au cours de la 5^{ème} semaine. Nous avons enregistré la reprise de la croissance de la spiruline dans tous les milieux, à partir de la 5^{ème} semaine, ce qui nous laisse croire, que la croissance n'a pas encore atteint la phase stationnaire.

***Analyse statistique**

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre une influence très hautement significative ($P < 0,001$) des concentrations des différents milieux sur la vitesse de croissance. Aussi, le graphe 2 de l'ANOVA montre que le milieu (C5) présente le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$, ce qui valide les résultats de la courbe 2.



Graphe 2 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey pour l'effet du carbone sur la croissance de la Spiruline

2.3/ Taux de croissance spécifique (μ)

Nous avons estimé le taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans de BG11 modifié à partir de la 2ème semaine, considérant le 7ème jour de la culture comme t_0 . Ainsi, les résultats sont inscrits dans le tableau IX.

Tableau IX: Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié durant 42 jours (Moyenne \pm ET).

Milieux BG11 modifié	BG11 (N1)	BG11 (N2)	BG11 (N3)	BG11 (N4)	BG11 (N5)	BG11 (C1)	BG11 (C2)	BG11 (C3)	BG11 (C4)	BG11 (C5)
TEMPS (t)										
t ₂	0.20 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.14 ± 0.03	0.17 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.03
t ₃	0.11 ± 0.07	0.11 ± 0.07	0.04 ± 0.07	-0.11 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.08 ± 0.07	0.19 ± 0.07	0.11 ± 0.07	0.12 ± 0.07	0.09 ± 0.07
t ₄	-0.03 ± 0.04	-0.06 ± 0.04	0.01 ± 0.04	0.05 ± 0.04	-0.01 ± 0.04	0.04 ± 0.04	-0.05 ± 0.04	0.01 ± 0.04	0.00 ± 0.04	-0.07 ± 0.04
t ₅	0.04 ± 0.03	0.06 ± 0.03	0.06 ± 0.03	0.07 ± 0.03	0.00 ± 0.03	-0.01 ± 0.03	0.01 ± 0.03	-0.01 ± 0.03	0.04 ± 0.03	0.07 ± 0.03
t ₆	0.04 ± 0.06	-0.01 ± 0.06	0.04 ± 0.06	0.16 ± 0.06	0.18 ± 0.06	0.04 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.09 ± 0.06	0.06 ± 0.06	0.00 ± 0.06

Le taux de croissance spécifique était plus important durant la deuxième semaine de l'incubation, un maximum de 0.24 ± 0.03 cell/jr, de 0.23 ± 0.03 cell/jr et de 0.23 ± 0.03 cell/jr été enregistré dans les milieux BG11 (C3), (N2) et (N3), respectivement. Un minimum de -0.11 ± 0.07 cell/jr, était enregistré dans le milieu BG11 (N4) durant la 3^{ème} semaine.

Pendant les quatre dernières semaines, le taux de croissance été négligeable, ce faible taux peut être dû à l'arrêt ou la diminution de la croissance, on remarque même une régression de cette dernière, représentée par des taux inférieurs à zéro.

Le taux de croissance spécifique pour chaque milieu a été mesuré et retracé dans la série d'histogrammes suivants :

➤ Taux de croissance spécifique (μ) pour BG11 (N1&N2)

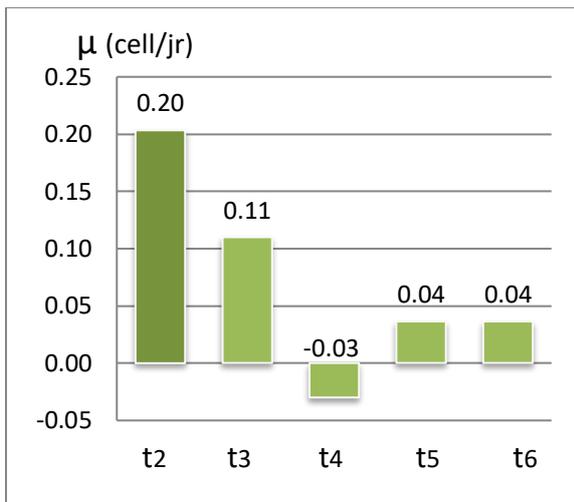


Figure 12 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (N1)

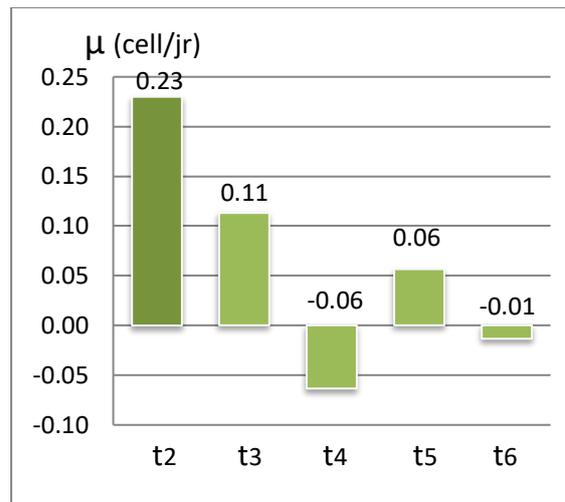


Figure 13 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (N2)

Des deux graphes des figures 12 et 13 nous remarquons que le taux le plus élevé a été enregistré pour le milieu BG 11 (N1) avec 0,20 cell/jr à t₂ suivit de 0,23 cell/jr à t₂ pour le milieu BG11 (N2).

➤ Taux de croissance spécifique (μ) pour BG11 (N3&N4)

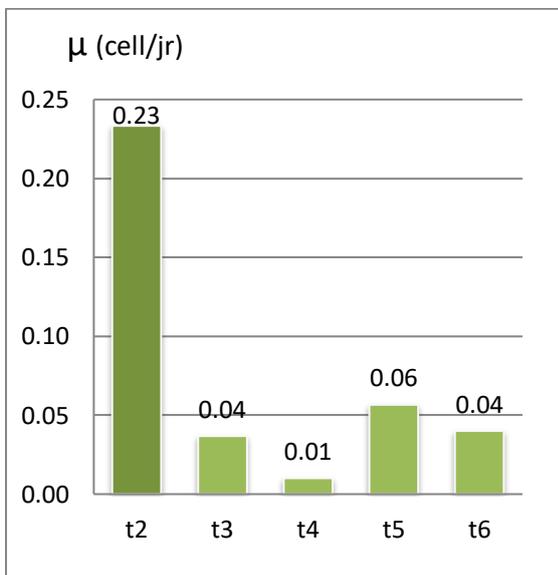


Figure 14 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (N3)

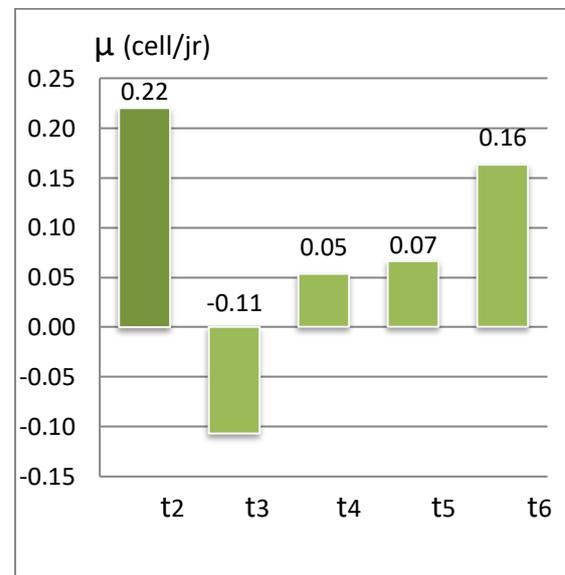


Figure 15 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (N4)

Des deux graphes des figures 14 et 15 nous remarquons que le taux le plus élevé à été noté dans le milieu BG11 (N3) avec 0.23 cell/jr à t₂ suivi de 0.22 cell/jr à t₂ dans le milieu BG11 (N4).

➤ Taux de croissance spécifique (μ) pour BG11 (N5&C1)

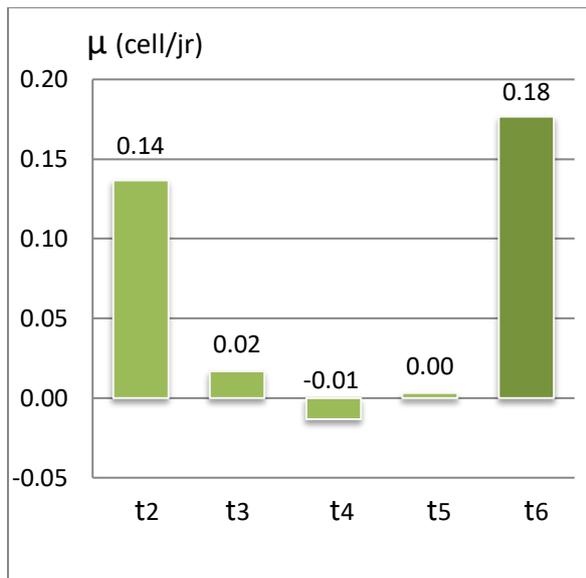


Figure 16: Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (N5).

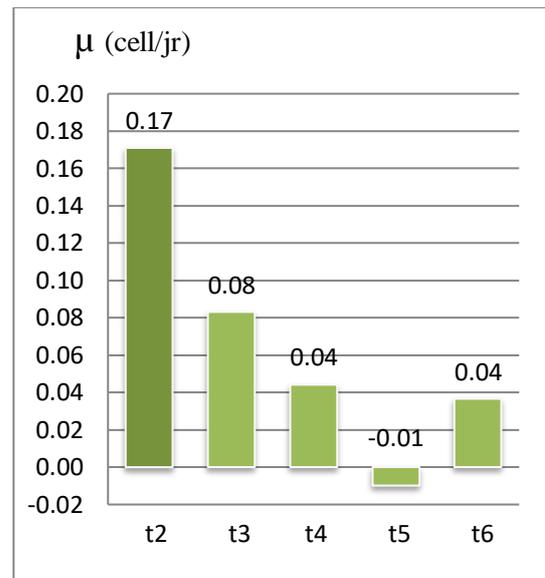


Figure 17 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (C1)

Des deux graphes de figures 16 et 17 nous remarquons que le taux le plus élevé a été enregistré à t₆ avec 0,18 cell/jr dans le milieu BG11 (N5) et 0.17 cell/jr à t₂ dans le milieu BG11 (C1).

➤ Taux de croissance spécifique (μ) pour BG11 (C2 & C3)

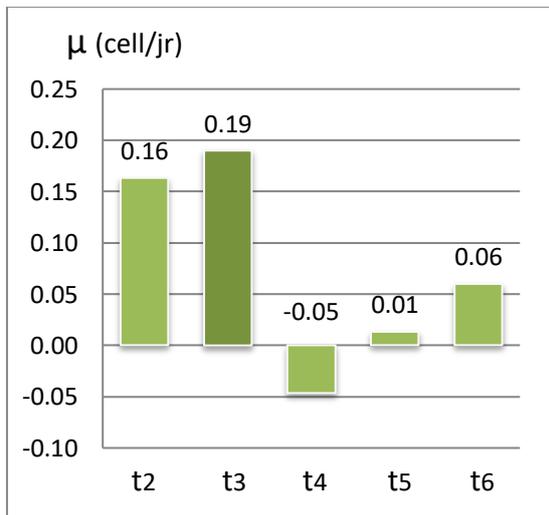


Figure 18: Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (C2)

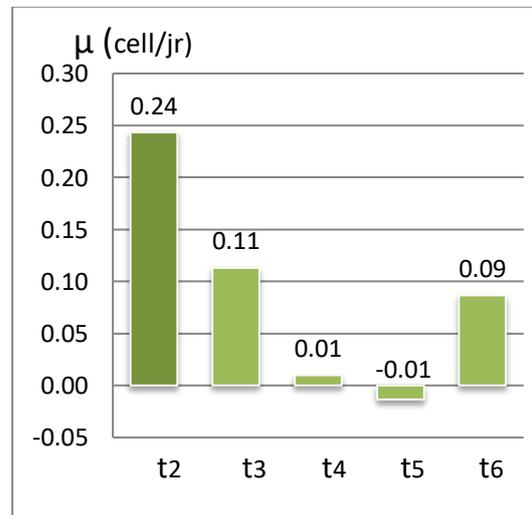


Figure 19: Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (C3)

Des deux graphes des figure 18 et 19 nous remarquons que le taux le plus élevé a été enregistré pour le milieu BG 11 (C2) avec 0,19 cell/jr à t₃ suivit de 0,24 cell/jr à t₂ pour le milieu BG11 (C3).

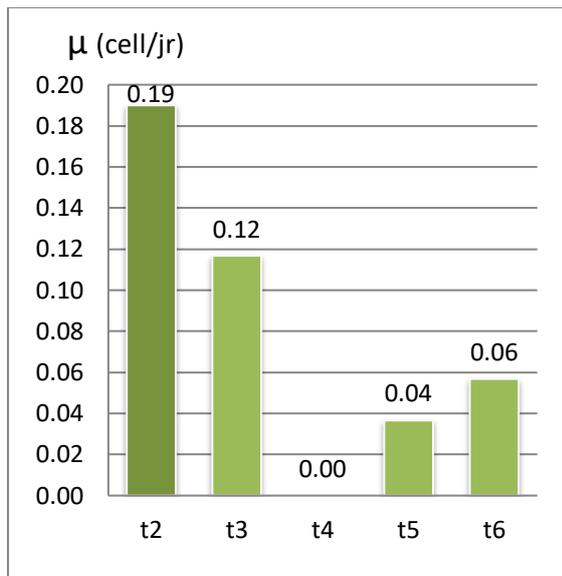
➤ Taux de croissance spécifique (μ) pour BG11 (C4&C5)

Figure 20: Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (C4)

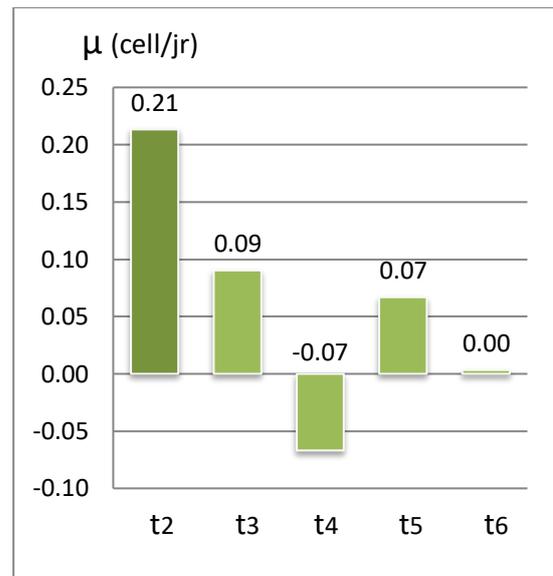


Figure 21 : Taux de croissance spécifique chez la spiruline cultivée dans le milieu BG11 (C5)

Des deux graphes des figure 20 et 21 nous remarquons que le taux le plus élevé a été enregistré pour le milieu BG 11 (C4) avec 0,19 cell/jr à t₂ suivit de 0,21cell/jr à t₂ pour le milieu BG11 (C5).

Dans des recherches similaires, le taux de croissance spécifique maximum obtenu par **Rajasekaran et al.**, (2016), été 6.1 cell/jr, observé chez *S. platensis* (CCMB), alors que le taux spécifique minimum été 2.6 cell/jr, observé chez *S. indica*.

Des taux beaucoup plus élevés que les notre, expliqués par, l'exposition des algues à une luminosité de (2.5 Klux) avec une photopériode de 12/12, lumière/obscurité, or, au cours de notre expérimentation nous avons optés pour une photopériode de 24h/jr.

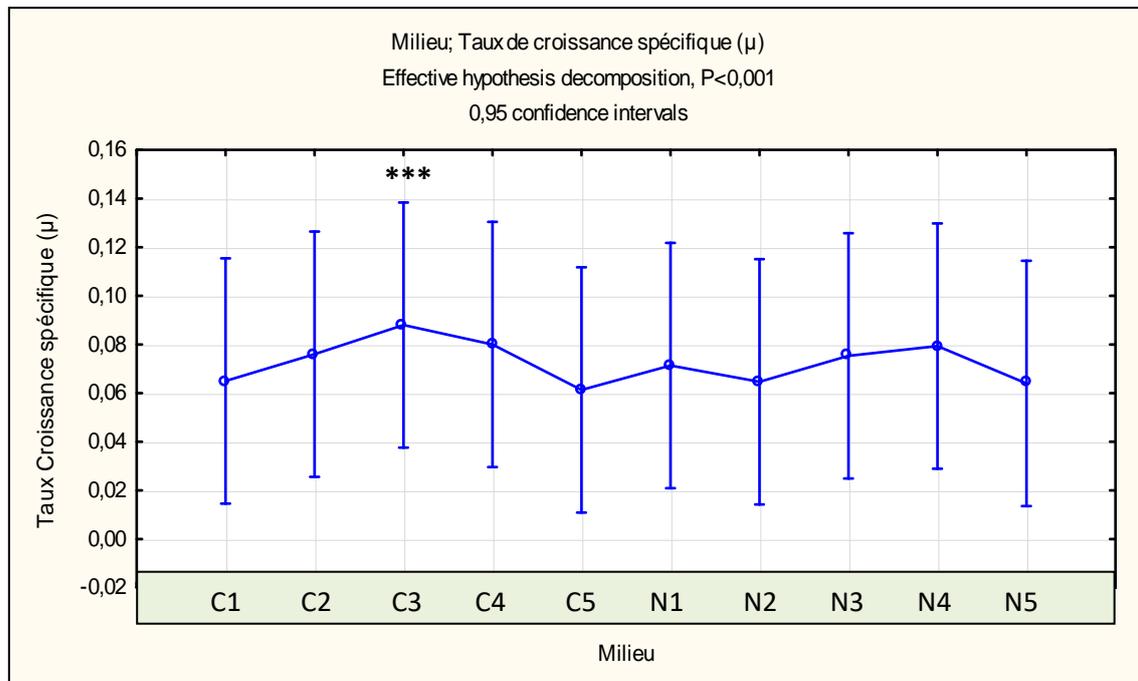
Dans d'autres recherches, où la spiruline été cultivée dans différents photobioréacteurs, les taux de croissance spécifique maximum été 0.988 ± 0.012 cell/jr, 0.0750 ± 0.011 cell/jr et pour celle cultivée dans des bassins ouverts, le taux de croissance spécifique maximum été 0.322 ± 0.005 cell/jr (**Fernandes da Silva et al.**, 2016).

L'alternance de la lumière et l'obscurité été l'une des conditions de culture proposé par **Jourdan** (2018), pour la réalisation de la photosynthèse en évitant la photoinhibition et par conséquent l'arrêt du développement de la spiruline.

L'agitation est une condition essentielle qui affecte la croissance de la spiruline, permettant à celle-ci d'être exposée à la lumière de manière homogène, malheureusement, il était difficile de contrôler ce facteur au cours de notre expérimentation.

***Analyse statistique**

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre un taux de croissance spécifique très hautement significative ($P < 0,001$) entre les différents milieux en fonction de leur composition. Aussi, le graphe 3 de l'ANOVA montre que le milieu (C3) présente le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$, analyse validant ce que illustrent les histogrammes.



Graph 3 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey pour le taux de croissance Spécifique de la Spiruline

2.4/ Temps de doublement(Td)

Le temps de doublement est calculé en fonction du temps que met une cellule à se diviser pendant 24 heures. Les résultats sont résumés dans le tableau X.

Tableau X: Temps de doublement chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié (Moyenne \pm E.T) pendant 42 jrs.

Milieux BG11 modifié	BG11 (N1)	BG11 (N2)	BG11 (N3)	BG11 (N4)	BG11 (N5)	BG11 (C1)	BG11 (C2)	BG11 (C3)	BG11 (C4)	BG11 (C5)
T_d /Jrs	3.90 ± 5.10	0.41 ± 5.10	15.15 ± 5.10	4.96 ± 5.10	6.50 ± 5.10	4.03 ± 5.10	14.81 ± 5.10	1.45 ± 5.10	9.72 ± 5.10	5.13 ± 5.10

Le temps de doublement est a son maximum dans les milieux BG11 (N3) et (C2), avec 15.15 ± 5.10 cell/jr et 14.81 ± 5.10 cell/jr, respectivement. Le minimum est noté dans les milieux BG11 (N2) et (C3), avec, 0.41 ± 5.10 cell/jr et 1.45 ± 5.10 cell/jr, respectivement.

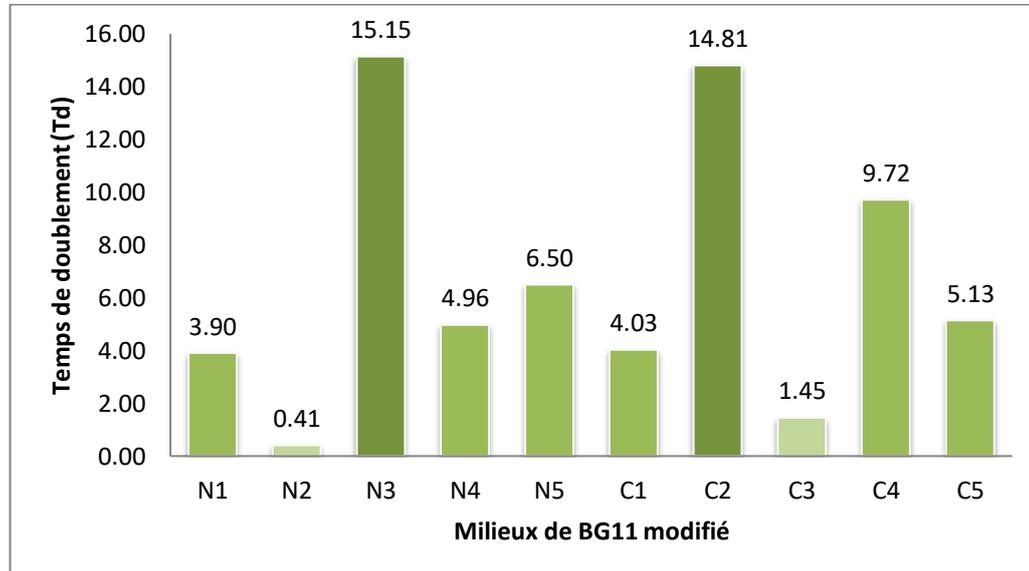


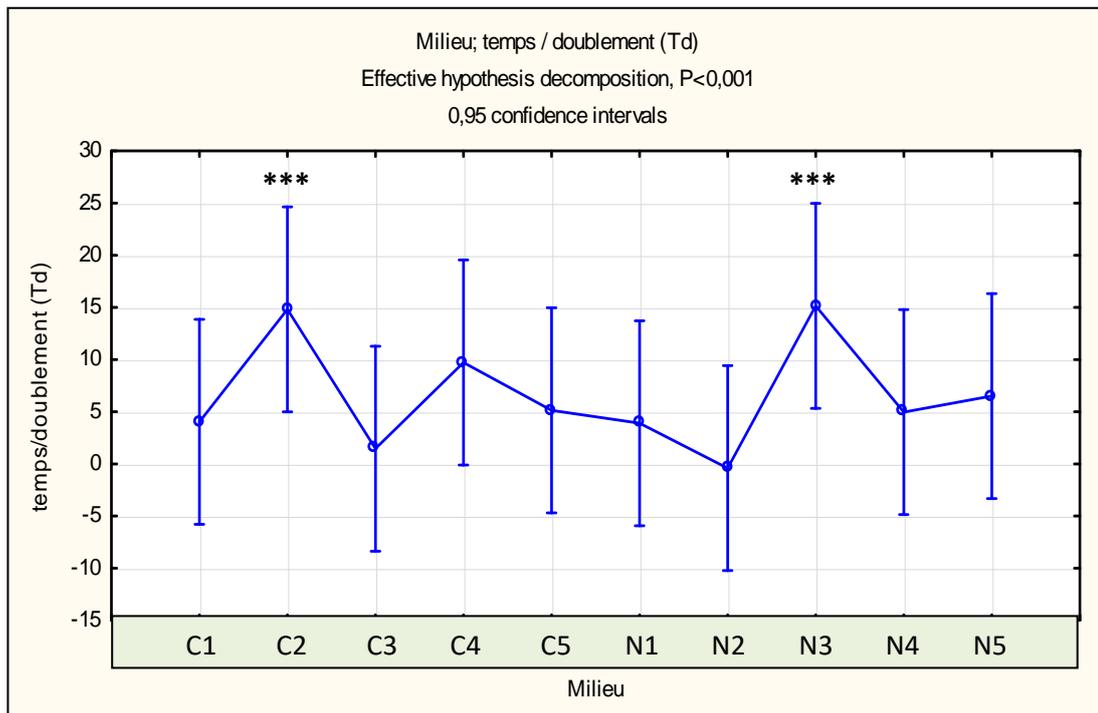
Figure 22: Temps de doublement chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.

D'après les recherches de Rajaskarane et *al.*, (2016), le temps de doublement maximum est de 6.93 et le minimum est 2.52, chez *S. platensis* et *S. indica*, respectivement.

En se basant sur les deux courbes de croissance, on déduit que, les temps de doublement les moins longs, enregistrés dans les milieux BG11 (N2) et (C3), sont dus à une croissance discontinue avec arrêt voir même une régression de celle-ci, par contre les milieux de BG11 avec un temps de doublement considérablement long (milieux BG11 N3 et C2), implique une croissance continue, sans intervalle d'arrêt et/ou de régression de croissance.

*Analyse statistique

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre un temps de doublement très hautement significative ($P < 0,001$) entre les différents milieux en fonction de leur composition. Aussi, le graphe 4 de l'ANOVA montre que les milieux (N3) et (C2) présentent le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$. L'analyse statistique concorde avec l'histogramme de temps de doublement.



Graph 4 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey pour le temps de doublement de la Spiruline

2.5/Taux de division quotidien moyen

Le tableau XI résume les résultats de taux de division quotidien moyen.

Tableau XI: Taux de division quotidien moyen de la spiruline cultivée sur les dix milieux de BG11 modifié (Moyenne \pm ET).

Milieux BG11 modifié	BG11 (N1)	BG11 (N2)	BG11 (N3)	BG11 (N4)	BG11 (N5)	BG11 (C1)	BG11 (C2)	BG11 (C3)	BG11 (C4)	BG11 (C5)
K	0.07 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	0.09 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02

Nous observons un taux de division quotidien moyen maximum dans les milieux de BG11 (N4) avec 0.15 ± 0.02 divisions/jr et le minimum avec 0.06 ± 0.02 divisions/jr dans les milieux BG11 (N5) et (C5).

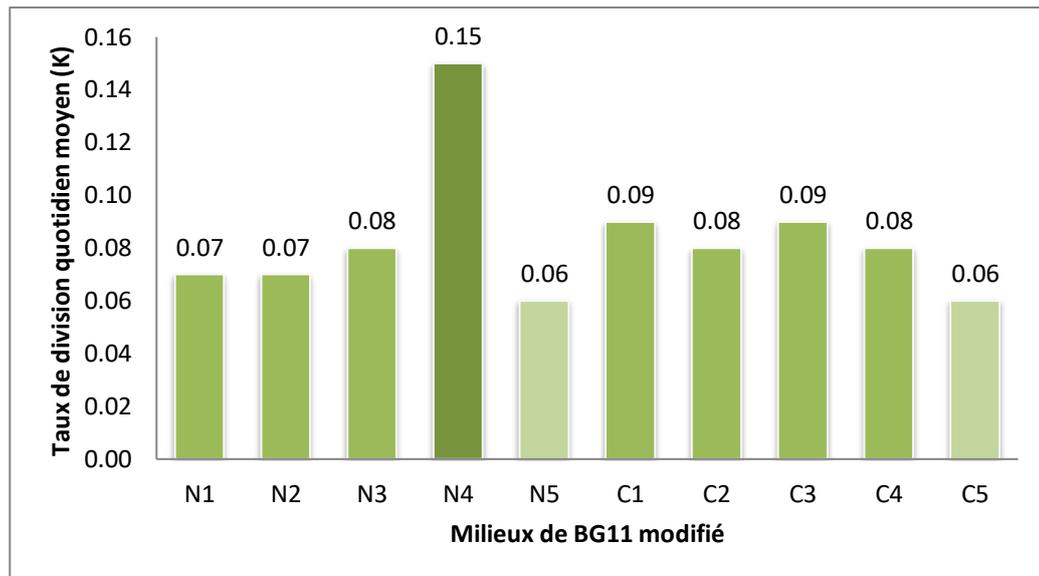


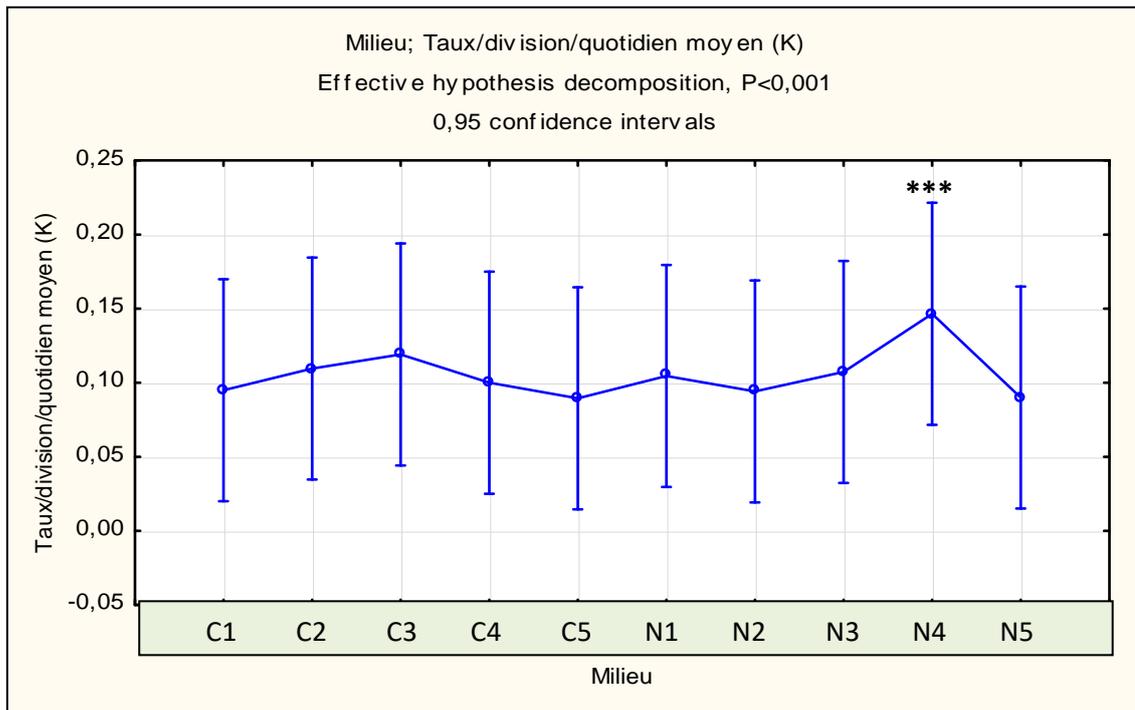
Figure 23: Taux de division quotidien moyen de la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.

D'après les recherches de **Rajasekaran et al.** (2016), le taux de division quotidien moyen maximum été 0.27 divisions/jr noté chez *S. platensis* (SP-6) et le minimum été 0.14 divisions/jr noté chez *S. indica*.

Des résultats plus élevés que les notre, expliqués peut-être par la régression de la croissance de la spiruline constatée à partir des graphes obtenus du taux de croissance spécifique. Il ne peut y avoir de division cellulaire alors que les cellules elles mêmes se décomposent et meurt.

*Analyses statistiques

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre un taux de division quotidien moyen très hautement significatif ($P < 0,001$) entre les différents milieux en fonction de leur composition. Aussi, le graphe 5 de l'ANOVA montre que le milieu (**N4**) présente le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$, une analyse qui correspond à ce que illustre l'histogramme.



Graph 5 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey pour le taux de division quotidien moyen de la Spiruline

2.6/ Estimation de la chlorophylle-a

La teneur en chlorophylle-a se fait en fonction des différentes lectures des densités optiques mesurées à 665 nm. Ainsi, les résultats sont résumés dans le tableau XII.

Tableau XII: Teneurs de la chlorophylle-a (mg/ml) chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs (Moyenne \pm ET).

Milieux BG11	BG11 (N1)	BG11 (N2)	BG11 (N3)	BG11 (N4)	BG11 (N5)	BG11 (C1)	BG11 (C2)	BG11 (C3)	BG11 (C4)	Bg11 (C5)
t_1	0.236 ± 0.05	0.212 ± 0.05	0.232 ± 0.05	0.257 ± 0.05	0.116 ± 0.05	0.150 ± 0.05	0.191 ± 0.05	0.287 ± 0.05	0.247 ± 0.05	0.255 ± 0.05
t_2	0.637 ± 0.20	0.384 ± 0.20	0.052 ± 0.20	0.422 ± 0.20	0.447 ± 0.20	0.137 ± 0.20	0.139 ± 0.20	0.128 ± 0.20	0.067 ± 0.20	0.471 ± 0.20
t_3	0.187 ± 0.08	0.262 ± 0.08	0.234 ± 0.08	0.089 ± 0.08	0.084 ± 0.08	0.167 ± 0.08	0.115 ± 0.08	0.329 ± 0.08	0.090 ± 0.08	0.187 ± 0.08
t_4	0.913 ± 0.75	2.693 ± 0.75	0.877 ± 0.75	1.208 ± 0.75	0.438 ± 0.75	2.648 ± 0.75	1.472 ± 0.75	1.740 ± 0.75	1.870 ± 0.75	1.100 ± 0.75
t_5	1.226 ± 0.25	0.886 ± 0.25	0.989 ± 0.25	1.056 ± 0.25	0.765 ± 0.25	1.154 ± 0.25	1.275 ± 0.25	1.686 ± 0.25	1.029 ± 0.25	1.288 ± 0.25
t_6	0.680 ± 0.22	0.859 ± 0.22	0.505 ± 0.22	0.693 ± 0.22	0.313 ± 0.22	0.680 ± 0.22	0.908 ± 0.22	0.327 ± 0.22	0.358 ± 0.22	0.805 ± 0.22

Des teneurs maximales de la chlorophylle-a de 2.693 ± 0.75 mg/ml et 2.648 ± 0.75 mg/ml ont été observées respectivement dans les milieux BG11 (N2) et (C1) au 4^{ème} semaine et des teneurs non négligeables ont été aussi observées dans les milieux BG11 (C3) et (C4) dans la même semaine. Le minimum de 0.052 ± 0.20 mg/ml à été observé au 3^{ème} semaine dans le milieu BG11 (N3).

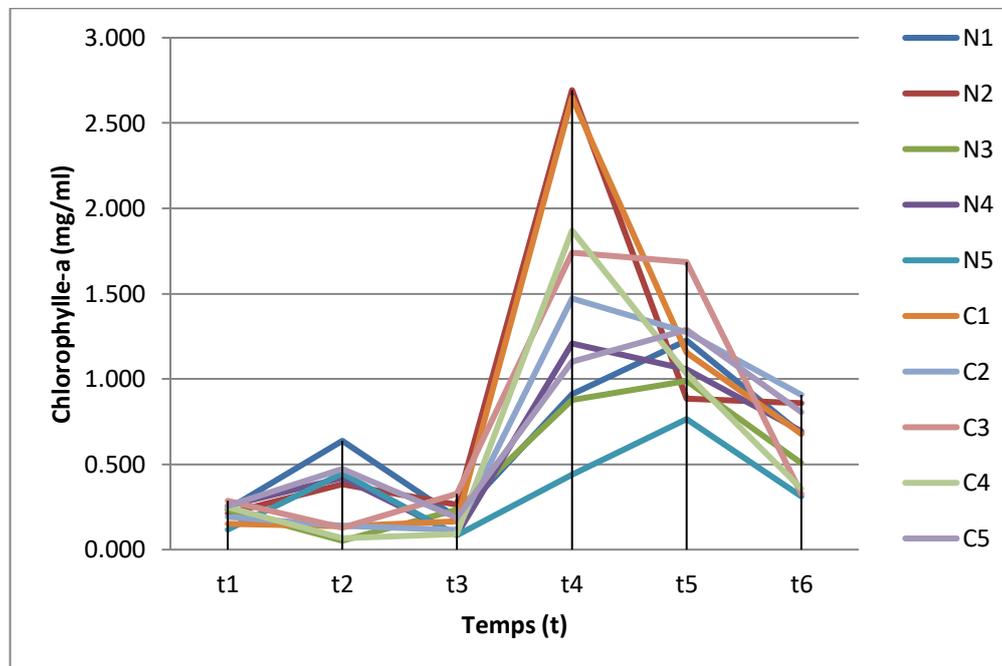


Figure 24: Courbe présentant l'évolution de la chlorophylle-a chez la spiruline cultivée dans les dix milieux de BG11 modifié pendant 42 jrs.

La hausse de la teneur de la Chlo-a été très rapide au cours de la 4^{ème} semaine, observée quasiment dans tous les milieux, et son déclin a été aussi rapide que son augmentation dans les milieux BG11 (N2), (C1) et (C4).

Nous remarquons que les valeurs les plus élevées de la chlorophylle-a sont obtenues entre la 3^{ème} et la 5^{ème} semaines, une période dans laquelle nous avons observé un déclin de croissance indiqué par les autres paramètres de croissances, cette différence nous permet de dire que pendant cette période la division cellulaire s'est arrêtée sans pour autant affecter la persistance de la chlorophylle-a, dont on suppose qu'elle à était larguée à l'extérieur des cellules.

Pour les milieux BG11 (N3) et (C3), la teneur de la Chlo-a à été quasiment stable durant la 5^{ème} semaine, et elle a légèrement chutée dans les milieux BG11 modifié (N4) et (C2) et a très légèrement augmentée dans les milieux BG11 (N1), (N5) et (C5).

D'après les recherches de **Sharma et al.**, (2014), la teneur de chlo-a observée chez *S.platensis*, été 9.05 ± 0.33 avec $pH=7$, et 3.68 ± 0.20 avec $pH = 11$.

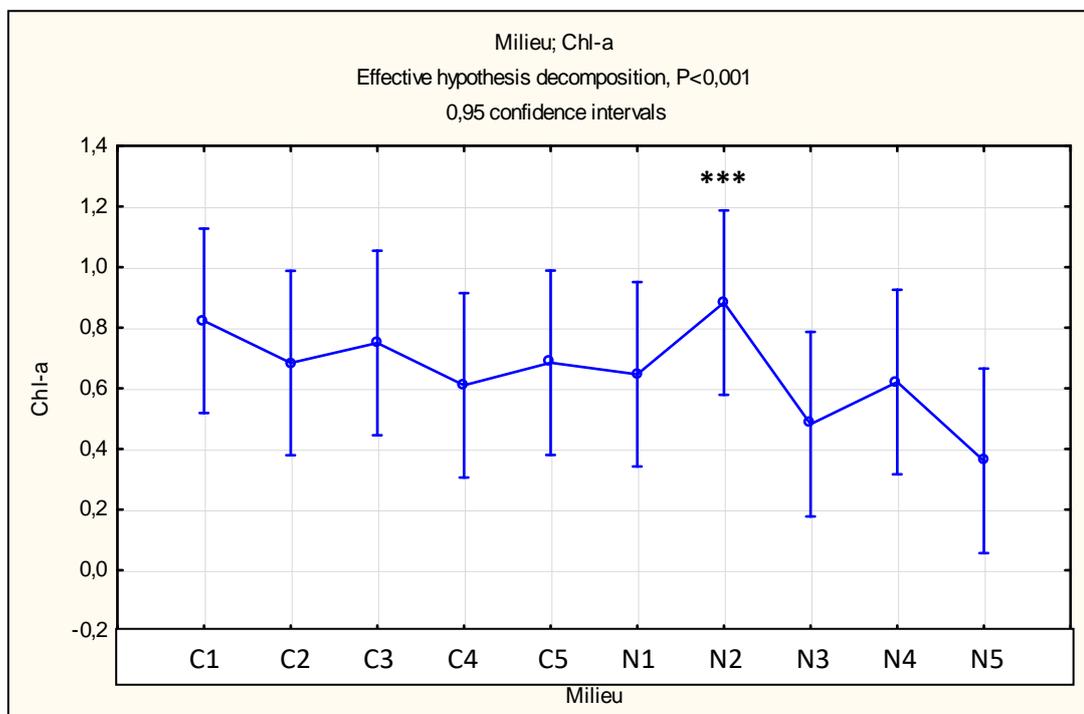
Ces valeurs sont très élevées que les notre, cette différence peut être expliquée par des études faites par **Dere et al.**, (1998), qui montre que le niveau bas des pigments est influencé

par des facteurs limitant tels que la lumière intense et le changement de degrés de la température lors de la prise des échantillons.

Le même auteur, explique que le méthanol est meilleur que l'acétone et le diethyl éther pour l'extraction des pigments (chlorophylle-a, chlorophylle-b et caroténoïdes) chez certaines espèces d'algues, et qu'il est essentiel de bien choisir la méthode et le solvant à utilisé pour l'extraction des pigments selon l'espèce.

*Analyse statistique

L'analyse statistique de l'ANOVA par le test Tukey à 5% montre que la teneur en chlorophylle-a présente une évolution très hautement significative ($P < 0,001$) entre les différents milieux en fonction de leur composition. Aussi, le graphe 6 de l'ANOVA montre que le milieu (N2) présente le plus haut seuil de significativité pour $\alpha = 5\%$, cette analyse correspond à ce que montre la courbe d'évolution de la chlorophylle-a.



Graph 6 : Seuil de signification du test ANOVA/ Tukey concernant la teneur en chlorophylle-a de la Spiruline

On a effectué une deuxième analyse statistique de la variation de la teneur en chlorophylle-a de la spiruline en fonction de temps par une ANOVA multifactorielle (deux variables : temps et teneur de Chlo-a), montre que le temps à une influence très hautement significative sur la teneur en Chlo-a avec $p = 0$ ($p < 0,001$).

2.7/Observation microscopique

Observation microscopique de la spiruline au 35^{ème} jour, prise des échantillons de spiruline cultivée dans de BG11 modifié, grossissement X40.

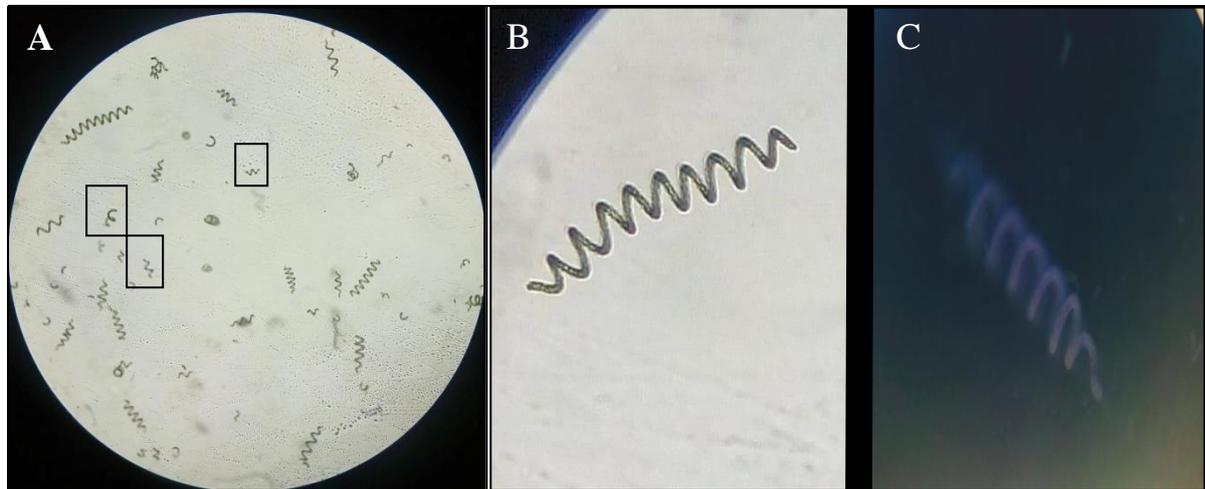


Figure 25: A : des trichomes de spiruline avec des spires qui varient entre 2 et 9, B : un trichome de spiruline avec 9 spires et C : un trichome de spiruline avec 7 spires. (Personnelle, 2019)

A travers les photos prises de plusieurs échantillons de spiruline cultivée dans de BG11 modifié, on remarque un bon développement de la micro-algue, l'image A montre la division des trichomes, ce qui concorde avec les résultats présentés par les courbes de croissance, dont on enregistre une reprise de croissance à partir de la 6^{ème} semaine.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En fonction des conditions physico-chimiques du milieu dans lequel est cultivée la spiruline, celle-ci sera intérieurement composée d'un vaste panel de molécules chimiques de grande importance nutritive (protéines, lipides, carbohydrates, pigments et vitamines).

Notre étude consiste à optimiser la croissance de la spiruline dans le milieu de culture de Blue-Green medium (BG11), et cela par la modification des concentrations de nitrates de sodium (NaNO_3) et de carbonates de sodium (Na_2CO_3) et par conséquent, apporté des changements sur les concentrations d'azote et de carbone.

L'incubation de la spiruline à durée 42 jours, au cours desquelles, des dosages de la densité optique ont été faites chaque 7 jours, la première lecture à 880 nm pour estimer et calculer des paramètres de croissance, qui sont : le taux de croissance spécifique, le temps de doublement et le taux de division quotidien moyen, la deuxième lecture à 665 pour l'estimation de la chlorophylle-a.

Nous avons enregistré des valeurs maximums dans les milieux suivants :

-D'après les deux courbes de croissance, la croissance été très importante dans les milieux de BG11 modifié (N2) et (C5).

-Le Taux de croissance spécifique été 0.24 ± 0.03 cell/jr, 0.23 ± 0.03 cell/jr et 0.23 ± 0.03 cell/jr, dans les milieux de BG11 modifié (C3), (N2) et (N3), respectivement.

-Le Temps de doublement été 15.15 ± 5.10 cell/jr et 14.81 ± 5.10 cell/jr dans les milieux de BG11 modifié (N3) et (C2), respectivement.

-Le Taux de division quotidien moyen été 0.15 ± 0.02 divisions/jr dans le milieu BG11 modifié (N4).

-La Chlorophylle-a été 2.693 ± 0.75 mg/ml dans le milieu BG11 modifié (N2).

Les analyses statistiques réalisées par le logiciel STATISQUA, ont bien validés nos résultats en utilisant ANOVA multifactorielle et ANOVA univariée (test de Tukey) pour $\alpha = 5\%$.

En se référant aux paramètres de croissance obtenus après six semaines d'incubation de la spiruline dans le milieu BG11 modifié, nous avons déduis, qu'il était inutile de continuer l'expérimentation au delà de trois semaines a cause de l'épuisement du milieu de ses nutriments. Et malgré cela on constate que les résultats sont prometteurs, et sont en faveurs de plusieurs milieux de BG11 modifié, qui sont : N2, N3, N4, C2, C3, C5, qui répondent parfaitement à notre objectif, concernant l'obtention d'un milieu BG11 modifié propice à la croissance de la spiruline, que ça soit pour une culture expérimentale ou industrielle.

La composition chimique de la spiruline lui confère un large potentiel d'utilisations, (nutrition, alimentation animale, médicaments, cosmétique, énergie et agriculture), de ce fait, la spiruline est considérée comme aliment original et intéressant pour répondre aux besoins de

la malnutrition dans les pays en voie de développement. Or, son intérêt est tout autre dans les pays développés, où elle est utilisée certes, pour répondre à des problèmes de santé, mais dont le niveau est bien plus exigeant, c'est au profit du bien être que les industriels exploitent la spiruline.

L'intérêt de la spiruline ne se limite pas à ses seules vertus nutritionnelles, elle représente un moyen de développement économique dans de nombreux pays de tiers monde, même avec des productions très faibles issues des cultures modestes créés essentiellement par les ONG.

Une large production de la spiruline, permet la valorisation du CO₂ industriel, agricole et urbain (1kg de spiruline consomme 2kg de CO₂ par jour), elle peut aussi servir à l'épuration des eaux usées ou des effluents industriels par lagunage. L'utilisation de la spiruline pourra s'élargir vers la production des biocarburants.

Il a été prouvé dans de nombreuses recherches scientifiques, que l'efficacité de la spiruline est indiscutable concernant ses valeurs nutritionnelles, par contre, sa contribution dans l'amélioration de la vie quotidienne de l'homme, dépendra essentiellement de la volonté et de la conviction de ce dernier vis-à-vis l'importance et les motivations de son utilisation de la spiruline.

Les perspectives portent sur les suggestions suivantes :

- * Poursuivre la recherche dans le but d'une identification génétique de l'espèce *Arthrospira sp.* (Spiruline).
- *Améliorer les conditions de croissance de la spiruline en traitant d'autres paramètres de croissance (intensité lumineuse, température et salinité (eau de mer)), en liaison avec l'environnement des régions du Nord Algérien.
- * Développer la production de la spiruline en Algérie pour enrichir le secteur alimentaire et réduire son prix au profit des personnes qui souffrent de malnutrition et des maladies incurables.
- *Encourager la production artisanale de la spiruline et permettre aux citoyens de créer leurs propres entreprises pour réduire le taux de chômage.

Références bibliographiques

Ak, B., Isik, O., Beklevik Ozyurt, G., Kafkas, B. (2016). Nutritional and Physicochemical Characteristics of Bread Enriched with Microalgae *Spirulina platensis*. *Int. Journal of Engineering Research and Application* [en ligne], v 6, 12 (4), 30-38.

Anses. (2017). "Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail : risques liés à la consommation de compléments alimentaires contenant de la Spiruline". Maisons-Alfort, France. <https://www.anses.fr> (consulté le 10/02/2019).

Arrignon, J. (2002). L'aquaculture de A à Z. France. TEC et DOC. 439 p.

Arzel, P. et Barbaroux, O. (2010). Les algues : Produits, saveurs et santé de la mer. France. Neva. 119 p.

Bajpai, R., Prokop, A. et Zappi, M. (2013). Algal Biorefineries: volume1: Cultivation of cells and Products. Biomedical and life Sciences. Springer Science and Business Media. Illustrée. [en ligne]. 324 p.

Balloni, W., Tomaselli, L., Giovannetti, L. et Margheri, M.C. (1980). *Biologia fondamentale del genere Spirulina*. Materassi R. (ed) *Prospective della coltura di Spirulina in Italia*. Consilio Nazionale delle Ricerche, Rome [en ligne], 49-85.

Barnabé, G. (1989). Aquaculture. v1. France. TAC et OC.

Barry, M., Ouedraogo, M., Sourabie, S., Guissou, I.P., Pierrick, B. et Calop, J. (2014). Notification des effets indésirables de la Spiruline chez l'homme : revue systématique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* [en ligne], 7 (4), 1568-1578.

Barsanti, L. et Gualtieri, P. (2006). *Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Taylor Et Francis Group. 320 p.

Batello, C., Marzot, M., Touré, A.H. et FAO. (2005). *Futur est un ancien lac. Savoirs traditionnels, biodiversité et ressources génétiques pour l'agriculture et l'alimentation dans les écosystèmes du bas du lac Tchad*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 320 p.

Belay, A. (2002). The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J. Am. Nutraceut. Assoc* [en ligne], 5, 27-48.

Billard, R. (1984). BAR volume 2 de hydrobiologie et aquaculture. Institut national de la recherche agronomique. France. Quae.[en ligne]. 542 p.

Bourelly, P. (1970). Les algues d'eau douce, initiation a la systématique. Les algues bleues et rouges. Les Euglèniens, Péridiniens et Cryptomonadines. France. Boubée. 512 p.

Bourelly, P. (1985). Les algues d'eau douce. Initiation a la systematique. Les algues bleues et rouges. Les Eugleniens, Peridiniens, et Cryptomonadines. Tome 3. France. Boubée. 606 p.

Bujard, E.U., Braco, U., Mauron, J., Mottu, F., Nabholz, A., Wuhrmann, J-J. et Clément, G. (1970). Composition and nutritive value of blue green algae (spirulina) and their possible use in food formulation. 3rd International Congress of Food Science and Technology, Washington. [en ligne].

Castenholz, R.W., Rippka, R., Herdman, M. et Wilmotte, A. (2001). Form-genus I. *Arthrospira* Stizenberger 1852. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds.) [en ligne], v1, 542-543.

Celekli, A., Yavuzatmaca, M. et Bozkurt, H. (2009). Modeling of biomass production by *Spirulina platensis* as function of phodphate concentrations and pH regimes. *Bioresour Technol* [en ligne], 100, 3625-3629.

Charpy, L., Langlade, M.J., Vincent, N. et Riva, A. (2004). Colloque international sur les cyanobactéries pour la santé, la science et le développement. France. Institut océanographique Paul Ricard. [en ligne]. 203 p.

Charpy, L., Langlade, M.J. et Alliod, R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? Institut de Recherche pour le Développement. Marseille, France. [en ligne]. 49 p.

Chen, H-W., Yang, T-S., Chen, M-J., Chang, Y-C., Eugène I.C-W, Ho,C-L., Lai,Y-J., Yu, C-C., Chou, J-C., Chao, L-K.P. et Liao, P-C. (2014). Purification and immunomodulating activity of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas. *Process Biochimie* [en ligne], v 49, 1337-1344.

Cornet, J.F., Dussap, C.G. et Dubertret,G. (1992). A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors. I. Coupling between light transfer and growth kinetics. *Biotechnology and Bioengineering* [en ligne], 40, 817-825.

Cornet, J-F. (1998). Les photobioréacteurs. *Biofutur* [en ligne], 176, 101, 1-10.

Crochut, H. (2008). La spiruline : bilan et perspective. [en ligne]. 332 p.

Coz, a. (2011).la spiruline : Aspect nutritionnel et humanitaire. [en ligne]. 316 p.

Dalgaard, P. et Koutsoumanis, K. (2001). Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. *J. Microbiol. Meth* [en ligne], 43, 183-94.

Debleds, J-P. (2015). La parallaxe de Mercator. Volume 2. The book Edition. [en ligne]. 372 p.

De Castro, G.F.P.S., Rizzo, R.F., Passos, T.S., Santos, B.N.C., Dias, D.S., Dominguls, J.R. et Araújo, K.G.L. (2014). Biomass production by *Arthrospira platensis* under different culture conditions. *Food Science and Technology*, Campinas [en ligne], 35(1), 18-24.

Dere, Ş., Güneş, T. et Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Tr. J. of Botany* [en ligne], 22, 13-17.

De Rosa, M., Bruna, L.M., Cardias, B., de Souza, A., Alberto, J., et Costa, V. (2015). Chemical absorption and CO₂ biofixation via the cultivation of *Spirulina* in semicontinuous mode with nutrient recycle. *Bioressources Technologie*[en ligne], v 192, 321-327.

Doumenge, F., Durand-Chastel, H. et Toulemont, A. (1993). *Spirulina*, algue of life. Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco. Numéro spécial 12.Monaco. Musée Océanographique. 222 p.

El-Kassas, H.Y., Ahmed Heneash, M.M. et Hussein, N.R. (2015). Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* using confectionary wastes for aquaculture feeding. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* [en ligne], v 13, issue 2, 145-155.

Euzen, J-P., Trambouze, P. et Wauquier, J-P. (1993). Méthodologie pour l'extraction des procédés chimiques. Publication de l'institut français du pétrole. Paris. Edition TCHNIP. [en ligne]. 244 p.

Farineau, J., Morot-Gaudry, J-F. (2018). La photosynthèse: Processus physiques, moléculaires et physiologiques. France. Quae. [en ligne]. 460 p.

Feillet, P. (2012). Nos aliments sont-ils dangereux ? : 60 clés pour comprendre notre alimentation. France. Quae.240 p.

Fernandes da Silva, M., Alberto Casazza, A., Francesco Ferrari, P., Perego, P., Pedrosa Bezerra, R., Converti, A. et Figueiredo Porto, A.L. (2016). A new bioenergetic and thermodynamic approach to batch photoautotrophic growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* in different photobioreactors and under different light conditions. *Bioresource technology* [en ligne], v 207. 220-228.

Ferreira, A.F., Ribeiro, L.A., Batista, A.P., Marques, P.A.S.S., Nobre, B.P., Palavra, A.M.F., da Silva, P.P., Gouveia, L. et Silva, C. (2013). A biorefinery from *Nannochloropsis* sp microalga – energy and CO₂ emission and economic analyses. *BiorTechnol* [en ligne], 138, 235–244.

Flaquet, J. et Hurni, J-P. (2006). Spiruline Aspects Nutritionnels. Genève. Antenna Technologies. 41p.

Floc’h, J-Y., Leclerc, V. (2010). Les secrets des algues. France. Quae. 168 p.

Fott, B. (1971). Algenkunde. 2e édition. [1re édition, 1959]. Jena : Gustav Fischer. 581 p.

Fox, D. (1999). Spiruline : technique, pratique et promesse. Aix en Provence. EdiSud. 246 p.

Garcia, J.L., de Vicente, M. et Galán, B. (2017). Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microbial Biotechnology*, n° 10, 1017-1024.

Gayral, P. (1975). Les algues, morphologie, cytologie, reproduction et écologie. Paris. Doin. 166 p.

Gershwin, M.E. et Belay, A. (2007). Spirulina in Human Nutrition and Health. CRC Press. Illustrée. [en ligne]. 328 p.

Guignard, J-L. (2000). Biochimie végétale. Paris. Dunod. 274 p.

Healy, F.P. et Hendzel, L.L. (1976). Physiological changes during the course of blooms of *Aphanizomenon flos-aquae*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, [en ligne], 33, 36-41.

Henrikson, R. (2010). Spirulina World Food, how this micro algae can transform your health and our planet. Hawaii. Ronor Enterprises Inc. [en ligne]. 175 p.

Iltis, A. (1980). Ecologie de *Spirulina platensis* dans les milieux natrones d’Afrique sahélienne. Estratto da Atti del Convegno. Prospective della coltura di *Spirulina* in Italia. Firenz [en ligne], 20-21.

Jeon, Y., Cho., C. et Yun, Y. (2005). Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. *Biochemical Engineering Journal* [en ligne], 27(2), 127-131.

Jourdan, J.-P. (2018). « Cultivé votre spiruline, Manuel de culture artisanale de spiruline ». Edition Antenna Technologie [en ligne]. 239 p.

Junying, Z., Junfeng, R. et Baoning, Z. (2013). Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. Chin. J. catal [en ligne],34, 80-100.

Kanon, A. O. R., Seu-Anoi, N.M., Ouatarra, A. et Kouassib, B.A.T. (2016). Étude comparative de deux types d'eau pour la culture de la spiruline arthrospira platensis. Larhyss Journal [en ligne], n°28, 149-166.

Khan, Z., Bhadouria, P., et Bisen, P.S. (2005). Nutritional and Therapeutic Potential of Spirulina. Current Pharmaceutical Biotechnology. India [en ligne], 6, 373-379.

Le Guehennec, J. (2009). La spiruline. France. Edition Terre d'Homme. [en ligne].

Madkour, FF., Kamil, AE. et Nasr, HS. (2012). Production and nutritive value of Spirulina platensis in reduced cost media. The Egyptian Journal of Aquatic Research [en ligne], v 38, issue 1, 51-57.

Mackinney, G. (1941). Absorption of light by chlorophyll solution, J. Biol. Chem., [en ligne], 140: 315-322.

Menesguen, A. (2018). Les marées vertes, 40 clés pour comprendre. France. Quae. 128 p.
Michel Girin. L'aquaculture pourra-t-elle nourrir l'humanité de demain ? <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/developpement-durable-poisson-elevage-aquaculture-questions-1669/page/9/> (consulté le 04/03/2019).

Mollo, P. et Noury, A. (2013). Le Manuel du plancton. Volume 195 de Dossier pour un débat: Collection Essai. ECLM. [en ligne]. 198 p.

Morot-Gaudry, J-F. et Farineau, J. (2011). La photosynthèse: Processus physiques, moléculaires et physiologiques. France. Quae. 412 p.

Niangoran, N.U.F. (2017). Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse. Université Paul Sabatier – Toulouse III. France. [en ligne]. 124 p.

Nyabuto, D.K., Cao, K., Mariga, A.M., Kibue, G.W., He, M. et Wang, C. (2015). Growth performance and biochemical analysis of the genus Spirulina under different physical and chemical environmental factors. African journal of agricultural and research [en ligne], v10(36), 3614-3624.

Ogbonda, K.H., Aminigo, R.E., Abu, G.O. (2007). Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative Spirulina sp. Bioresour Technol [en ligne], 98, 2207-2211.

Ogbonna, J.C., Yada, H. et Tanaka, H. (1995). Light supply coefficient : a new engineering parameter for photobioreactor design. *Journal of Fermentation and Bioengineering* [en ligne], 80(4), 369-376.

Oliveira, M.A.C.L.DE., Monteiro, M.P.C, Robbs, P.G. et Leite, S.G.F. (1999). Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquacult. Int* [en ligne], 7, 261-75.

Onkar, N.T., Thingujam, I., Keithellakpam, O.S., Oinam, A.S., Gunapati, O., Laxmipriya, K., Aribam, S., Angom, Th., Wangkhem, I., Chungkham, S., Romi, Kh., Minerva, Sh., Pukhrambam, P., Thiyam B., Kangjam, S. et Gauri, D.Sh. (2015). Enumeration, pigment analysis and nitrogenase activity of cyanobacteria isolated from unexplored rice fields of Manipur, India falling under Indo-Burma biodiversity hotspots. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* [en ligne], 4(6): 666-680

Parikh, P., Mani, U. et Iyer, U. (2001). Role of *Spirulina* in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food* [en ligne], 4, 193-199.

Pérez, R. (1997). Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. France. Quae. 272 p.

Posten, C. et Walter, C. (2012). *Microalgal Biotechnology : Integration and Economy*. Berlin/Boston. Waalter de Gruyter GmbH.[en ligne]. 340 p.

Rai, M.P., Gautom, T. et Sharma, N. (2015). Effect of Salinity, pH, Light Intensity on Growth and Lipid Production of Microalgae for Bioenergy Application. *OnLine Journal of Biological Sciences* [en ligne], 15 (4), 260-267.

Raimond, C., Garine, E. et langlois, O. (2013). Ressources vivrières et choix alimentaires dans le bassin du lac Tchad. Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération, colloques et séminaires. France. IRD. [en ligne]. 772 p.

Rajasekaran, C., AJEESH, C.P.M., Balaji, S., Shalini, M., Siva, S., Das, R., Fulzele, D.P. et Kalaivani, T. (2016). Effect of Modified Zarrouk's Medium on Growth of Different *Spirulina* Strains. *Walailak J Sci & Tech* [en ligne], 13(1), 67-75.

Reviere, B. (2002). *Biologie et phylogénie des algues*. Paris. Belin. Tome 1. 351 p.

Reviere, B. (2003). *Biologie et phylogénie des algues*. Paris. Belin. Tome2. 255 p.

Rich, F. (1931). Notes on *Arthrospira platensis*. *Rev algol*, [en ligne], v 6, 75 p.

Roux, J. (2006). *Etre vigilant : l'opérativité discrète de la société du risque*. France. Université de Saint-Etienne. 268p.

Sguera, S. (2008). *Spirulina platensis et ses constituants: intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques*. Thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie. France. Université Henri Poincaré - Nancy 1 [en ligne]. 326 p.

Sharma, G., Kumar, M., Ifran Ali, M. et Dut Jasuja, N. (2014). Effect of carbon content, salinity and pH on *Spirulina platensis* for Phycocyanin, Allophycocyanin and Phycoerythrin accumulation. *J Microb Biochem Technol* [en ligne], v 6(4), 202-206.

Singh, D.P. et Kuar, G. (2009). *Algal Biology and Biotechnology*. New Delhi. I. K. International Publishing House Pvt. Ltd. [en ligne]. 278 p.

Sili, C., Torzillo, G., & Vonshak, A. (2012). *Arthrospira (Spirulina). Ecology of Cyanobacteria II*, [en ligne], 677–705.

Sostarić, M., Golob, J., Bricelj, M., Klinar, D. et Pivec A. (2009). Studies on the growth of *Chlorella vulgaris* in Culture Media with Different Carbon Sources. *Chem. Biochem. Eng. Q* [en ligne], 23 (4), 471-477.

Stanić-Vucinić, D., Minic, S., Nikolić, M.R. et Cirković Velicković, T. (2018). *Spirulina* phycobiliproteins as food components and complements. *Intchopen. Microalgal biotechnology* [en ligne], chapitre 7, 129-149.

Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. et Cohen-Bazire, G. (1971). Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacterio. Rev* [en ligne], 35, 171-205.

Subba Rao, D.V., Pan, Y. et Al-Yamani, F. (2005). Growth and photosynthetic rates of *Chlamydomonas plethora* and *Nitzschia frustula* cultures isolated from Kuwait Bay, Arabian Gulf and their potential as live algal food for tropical mariculture. *Mar. Ecol* [en ligne], v 26, no 1, 63-71.

Tsarahevitra, J. (2014). *Culture de spiruline en eau de mer. Adaptation de la spiruline du Sud de Madagascar en eau de mer. Mise au point des structures de production villageoise*. PAF. Illustrée. [en ligne]. 252 p.

Umesh, B.V. (2002). *Spirulina*. Volume 3 de *Natural way to health Quality of life series*. Unicorn Books Pvt Ltd. [en ligne], 32 p.

Vidal, J-L. (2008). *Spiruline : L'algue bleue de santé et de prévention*. Paris. Dauphin.

Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor and Francis. UK, USA. [en ligne]. 233p.

Whitton, B.A et Potts, M. (2000). *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Illustrée. [en ligne]. 669p.

Yeh, K-L., Chang, J-S. et Chen, W. (2010). Effect of light supply and carbon source on cell growth and cellular composition of a newly isolated microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Eng. Life Scie* [en ligne], v 10, 3, 201-208.

Xin, L., Hong-ying, H. et Ying-xue, S. (2010). Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake and lipide accumulation of a freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. *Bioresour. Technol* [en ligne], 101(14), 5494-5500.

Zarrouk, C. (1966). Contribution to the study of a Cyanophyceae. Influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* (Setch. and Gardner) Geitler. Ph.D Thesis. France. University of Paris. [En ligne].

Sites Web consultés

Site web 1 : <http://www.ecosociosystemes.fr/cyanophycees.html> (consulté le 21/05/2019)

Site web 2 : <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/> (consulté le 23/05/2019).

Site web 3 : <https://orbi.uliege.be> (consulté le 19/05/2019).

Site web 4: <https://algaeresearchsupply.com> (consulté le 06/05/2019).

Site web 5: (1996). L'encyclopédie visuelle des aliments. Québec Amérique. [en ligne].

Site web 6 : <https://eurekasante.vidal.fr> (consulté le 01/02/2019).

Site web 7 : <https://eurekasante.vidal.fr> (consulté le 01/02/2019).

Site web 8. <https://eurekasante.vidal.fr> (consulté le 26/04/2019).

Site web 9. <https://www.naturaforce.com> (consulté le 26/04/2019).

Site web 10. <http://micro-algues-tpe.eklablog.com/> (consulté le 05/06/2019 à).

Site web 11: <http://www.nouara-algerie.com/article-la-spiruline-une-algue-en-quete-d-une-mise-en-valeur> (consulté le 11/07/2019).

ANNEXE A



Figure1 : A, B et C : Les milieux de culture de la spiruline après 7 jrs d'incubation



Figure2 : Enceinte d'incubation **Figure 3** : Balance de précision **Figure 4**: Bain-marie



Figure 5: Spectrophotomètre **Figure 6** : microscope optique **Figure 7** : Autoclave



Figure 8 : pH-mètre essais

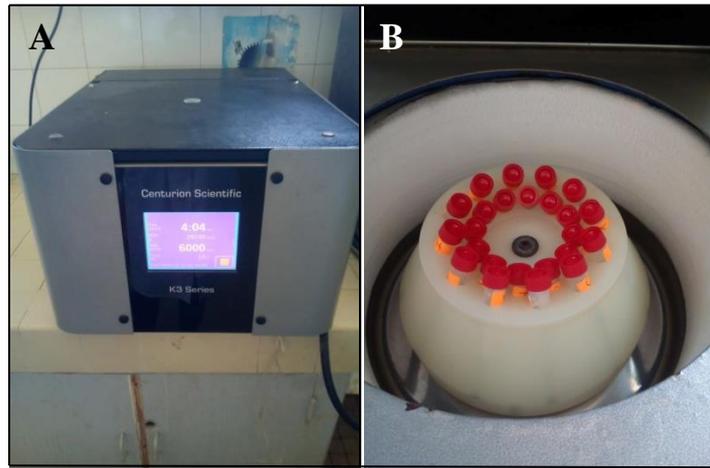


Figure 9 : A : Centrifugeuse, B : un rotor + des tubes a



Figure 10 : stocks de BG11 de 1 à 9



Figure 11 : Tubes secs de centrifugeuse



Figure 12 : Hotte + becs bunsen