

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل  
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement  
du Littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme  
d'Ingénieur en Sciences de la Mer

Option : Aquaculture

Thème :

Culture de microalgue *Arthrospira platensis* et voies de conditionnement

Présenté par :

M<sup>lle</sup> BOUROUIS Maroua

Soutenu le 27/11/2019 devant le jury composé de :

M. KADA M.	Maître-Assistant A	ENSSMAL	Président
Mme CHAOU N.	Maître-Assistante A	ENSSMAL	Examinatrice
M. KABRANE A.	Maître-Assistant A	ENSSMAL	Examineur
M. AIT SAIDI A.	Maître de Conférences B	ENSSMAL	Promoteur

Année universitaire : 2018-2019

## Remerciements

*« N'a pas remercié Allah, celui qui ne remercie pas les gens ».*

Hadith authentique rapporté par Ahmad, Abou Dâwoud et At-tirmidhi et authentifié par le Shaykh Al-Albâni qu'Allah leur fasse à tous miséricorde, ainsi qu'à nous tous.

Je fais partie de cette catégorie de gens qui croient qu'aucun travail ne peut-être réalisé en monôme, c'est avec de l'aide et de la contribution que l'on puisse l'accomplir.

Il me sera impossible de remercier tout le monde car c'est grâce à de nombreuses personnes que j'ai pu mener ce projet de fin d'études à son terme.

Je voudrai tout d'abord remercier grandement mon encadreur M. **AIT SAIDI** pour ses efforts, ses conseils et toute son aide. Je n'arrive pas estimer l'intensité de ma reconnaissance envers lui et envers tout le savoir qu'il m'avait transmis en cette courte durée. Son professionnalisme était d'un niveau très élevé, je suis ravie d'avoir travaillé en sa compagnie.

Je tiens à remercier M. **KADA** maître-assistant à l'ENSSMAL, et M<sup>me</sup>. **CHAOU** maître-assistante à l'ENSSMAL et M. **KABRANE** maître-assistant à l'ENSSMAL, de m'avoir honoré de leur présence en acceptant d'examiner ce présent travail.

Dans l'ordre de l'élaboration de ce modeste travail, j'aimerais remercier le **D<sup>r</sup>. HIRI A.** de nous avoir accordé, avec soin et amabilité, la matière première de notre étude.

Je ne saurai remercier assez le technicien de la ferme aquacole **M. HANICHE H.** pour toute son aide, sa disponibilité, sa gentillesse sans égal et sans savoir faire surtout et cela durant toute la période de la culture.

M<sup>me</sup>. **REFFAS** et M. **MATOUK** de m'avoir facilité les différentes décharges et de m'avoir préparé dans les délais souhaités tout le matériel dont j'avais besoin.

Les ingénieurs des laboratoires de l'ENSSMAL : Mesdames : **AMINA, HOUDA** et **SORAYA** et M. **NOUREDDINE**. Votre aide, vos conseils et vos encouragements m'ont été d'un bien inestimable.

Enfin, comme je l'avais mentionné en haut : il me sera impossible de remercier tout le monde, je tiens à présenter mes sincères reconnaissances à toute personne m'ayant aidé de loin ou de près dans la réalisation de ce modeste travail.

## Table des matières

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction ..... 2

### Chapitre I : Etude bibliographique

1 Généralités sur les microalgues ..... 5

1.1 Historique ..... 5

1.2 Définition..... 5

1.2.1 Cyanophytes ..... 6

2 Spiruline *Arthrospira platensis* ..... 6

2.1 Systématique de la spiruline..... 7

2.2 Morphologie ..... 8

2.3 Biologie et reproduction de la spiruline ..... 8

2.4 Ecologie et habitat de la spiruline..... 9

- Dans le monde ..... 9

- En Algérie ..... 10

2.5 Modes de la culture..... 10

2.5.1 Milieu de culture de la spiruline..... 11

2.5.2 Paramètres physiques de la culture de spiruline..... 12

2.5.3 Conditionnement et conservation..... 13

2.6 Composition et propriétés nutritives..... 14

2.6.1 Les protéines..... 15

2.6.2 Les glucides ..... 15

2.6.3 Les lipides ..... 15

2.6.4	Les vitamines.....	15
2.6.5	Minéraux et oligoéléments .....	15
2.7	Utilisations et bienfaits (humaines et aquacoles).....	16
2.7.1	Applications humaines et animales.....	16
-	Applications humaines .....	16
-	Applications animales.....	16
2.7.2	Applications industrielles .....	17
2.7.3	Applications environnementales .....	17
2.8	Anomalies, maladies et risques de contamination .....	18
2.8.1	Anomalies .....	18
2.8.2	Maladies.....	18
2.8.3	Contamination .....	18
-	Contamination par des microorganismes .....	19

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

1	Matériel biologique : spiruline.....	21
1.1	Souche utilisée .....	21
1.2	Observation microscopique.....	22
2	Culture de spiruline .....	22
2.1	Matériel et produits utilisés.....	22
2.2	Préparation du milieu de culture .....	23
2.3	Les étapes de la culture.....	25
2.3.1	Ensemencement.....	26
2.3.2	Filtration et essorage .....	29
2.3.3	Extrusion.....	30
2.3.4	Séchage .....	30
3	Suivi des caractéristiques de la spiruline .....	31
3.1	Couleur .....	31

3.2	Morphologie.....	31
4	Suivi des paramètres physico-chimique de la culture.....	31
4.1	Température.....	32
4.2	pH.....	32
4.3	Agitation.....	33
4.4	Lumière.....	33
5	Suivi des paramètres biométriques de la culture.....	34
5.1	Densité optique.....	34
5.2	Dénombrement des filaments.....	35
5.3	Mesure de la concentration.....	36

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

1	Observations macroscopiques.....	39
2	Observations microscopiques.....	40
3	Evolution des paramètres physico-chimiques.....	44
3.1	Température.....	45
3.2	pH.....	46
4	Suivi des paramètres biométriques.....	47
4.1	Concentration.....	48
4.2	Nombre de filaments.....	48
5	Contaminations.....	50
6	Filtration.....	52
7	Etude comparative.....	52
	<b>Conclusion.....</b>	<b>55</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Liste des figures

<b>Figure I.1:</b> Différentes morphologies des filaments d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	8
<b>Figure I.2:</b> Cycle biologique de la Spiruline selon ( <b>CHARPY, 2008</b> ) .....	9
<b>Figure I.3:</b> Zones de croissance naturelle de la spiruline dans le monde ( <b>GERALDINE et Benoit, 2016</b> ).....	10
<b>Figure I.4 :</b> Composition moyenne de la spiruline.....	14
<b>Figure I.5 :</b> Spirulines étripées vues au microscope ( <b>JOUDRAN, 2013</b> ).....	18
<b>Figure II.1 :</b> Photo prise au labo après versement de la souche dans un bécher .....	21
<b>Figure II. 2:</b> Spiruline HTam spp. vue au microscope optique Gx10x0.25 .....	22
<b>Figure II. 3:</b> Spiruline HTam spp. vue au microscope optique Gx40x0.65 .....	22
<b>Figure II.4:</b> Broyage du milieu de culture .....	24
<b>Figure II. 5:</b> Préparation du milieu de culture.....	25
<b>Figure II. 6:</b> Premier ensemencement de spiruline dans un aquarium de 3.5L.....	27
<b>Figure II.7:</b> Rajout de milieu de culture après une forte évaporation de la culture.....	27
<b>Figure II.8 :</b> Deuxième ensemencement de spiruline dans un aquarium de 22 L.....	28
<b>Figure II.9 :</b> Troisième ensemencement de spiruline dans un aquarium de 127 L.....	28
<b>Figure III.10:</b> Tamis 100µm et 300µm.....	29
<b>Figure II.11:</b> Disposition de la série de filtre pour la récolte de spiruline.....	30
<b>Figure II.12 :</b> Observation des filaments sous microscope optique (OPTIKA microscopes ITALIE) .....	31
<b>Figure II.13:</b> Thermomètre (type <b>HANNA HI 9040</b> ).....	32
<b>Figure II.14:</b> pH mètre de (type <b>HI 208</b> ).....	32
<b>Figure II.15:</b> Agitation manuelle de la culture au moyen d'une spatule en bois .....	33
<b>Figure II.16 :</b> Lampe néon ( <b>PHILIPS TL-D 18W/546765</b> ) utilisée comme source artificielle de lumière .....	34
<b>Figure II.17 :</b> Spectrophotomètre (type <b>UV-1800 SHIMADZU</b> ) utilisé pour la mesure de la DO.....	34
<b>Figure II.18:</b> Cellule de comptage (cellule de Malassez) .....	35
<b>Figure II.19 :</b> Disque de Secchi .....	37
<b>Figure III.1:</b> Evolution de la couleur de la culture durant le 1 <sup>er</sup> ensemencement.....	39
<b>Figure III.2 :</b> Evolution de la couleur de la culture durant le 2 <sup>ème</sup> ensemencement .....	40
<b>Figure III.3:</b> Evolution de la couleur de la culture durant le 3 <sup>ème</sup> ensemencement .....	40

<b>Figure III.4:</b> Morphologie de filament d' <i>A.platensis</i> type M2 observé au microscope optique (G×10×40) .....	41
<b>Figure III.5:</b> Filaments de spiruline éclatés observés au microscope optique (G×10×40) .....	41
<b>Figure III.6:</b> Formation d'une couche de mousse à la surface de l'aquarium.....	42
<b>Figure III.7:</b> Formation de grumeaux au fond de l'aquarium .....	42
<b>Figure III.8:</b> Pic de température de 43,4°C enregistré le 4 <sup>ème</sup> jour de l'ensemencement .....	43
<b>Figure III.9:</b> Division cellulaire des filaments d' <i>A.platensis</i> observée sous microscope optique (G×10×40).....	44
<b>Figure III.10 :</b> Filaments de spiruline très longs observés au microscope optique (G×10×40) .....	44
<b>Figure III.11 :</b> Evolution de la température durant le période de la culture.....	45
<b>Figure III.12:</b> Evolution du pH durant la période de la culture .....	46
<b>Figure III.13 :</b> Evolution de la concentration de la spiruline en fonction des jours.....	48
<b>Figure III.14 :</b> Evolution du nombre des filaments de spiruline dans la culture .....	49
<b>Figure III.15:</b> Evolution de la concentration de spiruline et du nombre de filaments dans la culture .....	50
<b>Figure III.16:</b> Filaments d' <i>A.platensis</i> étripés observés sous microscope optique (G×10×40) .....	51
<b>Figure III.17:</b> Contamination par <i>Phormidium</i> observé au microscope optique (G×10×40) .....	51
<b>Figure III.18:</b> Filtration de la spiruline.....	52

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1:</b> Confusions liées au terme de spiruline.....	7
<b>Tableau I.2:</b> Systématique d'Arthrospira platensis ( <b>GUIRY et GUIRY, 2019</b> ).....	7
<b>Tableau II.1:</b> Composition du milieu de culture de Dr. HIRI (g/l) .....	23
<b>Tableau II.2 :</b> Protocole de l'expérimentation .....	25
<b>Tableau III.1 :</b> Tableau comparatif des valeurs moyennes des paramètres physiques .....	53
<b>Tableau III.2 :</b> Tableau comparatif des valeurs initiales et finales des paramètres biométriques .....	53

## Liste des abréviations

<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>AFFA</b>	Association française pour l'algologie appliquée
<b><i>A.platensis</i></b>	<i>Arthrospira platensis</i>
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone
<b>DO</b>	Densité optique
<b>ENSSMAL</b>	Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et l'Aménagement du Littoral
<b>g</b>	Gramme
<b>HTam</b>	FOXBEHATAM
<b>Kg</b>	Kilo gramme
<b>L</b>	Litre
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>ONU</b>	Organisation des nations unies
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>µm</b>	Micro mètre
<b>µ</b>	Micron
<b>T°</b>	Température

# **Introduction**

### Introduction

La population mondiale est estimée à 7,7 milliards d'humains en juin 2019 selon un le rapport dénommé « Perspectives de la population dans le monde » de l'Organisation des Nations Unies (ONU). Parmi ses prévisions, l'ONU prévoit une population qui pourrait atteindre 9,7 milliards de personnes en 2050 et près de 11 milliards d'individus en 2100 (INED, 2019).

Désormais, la croissance de la population mondiale est telle que l'on parle de surpopulation, qui conduit l'humanité à surexploiter les ressources mondiales engendrant ainsi un ensemble de défis environnementaux et sanitaires. La pollution de l'environnement a des conséquences néfastes sur la qualité de vie de tous les êtres vivants. Avec le changement climatique, dû principalement aux émissions excessives de CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère engendrant l'augmentation de l'effet de serre et des températures qui ont pour conséquence la réduction des productions agricoles (MOLLER, 2015).

Le besoin fondamental de l'humanité étant la sécurité alimentaire. Par ailleurs, la diminution des terres cultivables accompagnée par un accroissement continu de la population mondiale rend plus difficile de garantir une production alimentaire saine assurant l'enrichissement de la quantité et de la qualité de la nourriture consommée (apports de nutriments essentiels).

Il est désormais clair que les méthodes agricoles actuelles telles que l'utilisation des engrais, des pesticides ont des effets néfastes sur l'environnement (destructions des écosystèmes, pollution des sols et des nappes phréatiques) et sur la santé humaine (allergies, fertilité, perturbateurs endocriniens, cancers, intoxications alimentaires).

Face à cette situation, des alternatives de production durable ont été mises en œuvre telles que les cultures en milieu contrôlé, à savoir la culture des microalgues qui se présente comme une solution d'avenir pour développer une agriculture responsable et autant soucieuse de l'environnement. Ces solutions optimisées permettent non seulement de supprimer tout type de pollution (engrais, pesticide, etc.), de procurer des produits sains tout en réduisant les surfaces de culture, les besoins en eau et le taux de CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère.

Les cyanobactéries sont des microalgues bleu-vertes qui se trouvent en abondance dans les milieux aquatiques (AUDINEAU, 1985). Il existe près de 2000 espèces de cyanobactéries et seulement une trentaine du genre *Arthrospira* qui sont comestibles dont la spiruline. Celle-ci, *Arthrospira platensis*, présente des qualités nutritionnelles exceptionnelles de par sa haute

teneur en protéine (50 à 70%) (GAYDOU, 2004), en glucides (15 à 25%), ainsi sa richesse en lipides, vitamines et minéraux (FALQUET, 2006).

L'*A.platensis* est consommée en toute sécurité par les hommes depuis des siècles

(FOX, 1999) et sa valorisation prend de l'ampleur depuis quelques années étant donné que selon l'AFFA (1982), la spiruline est considérée comme la source la plus riche de la nature.

Les principaux pays producteurs de la spiruline sont les états unis (USA), la Thaïlande et la Chine. L'Afrique reste l'un des continents où la production de spiruline est la plus faible malgré les conditions de culture favorables. L'Algérie quant à elle, figure parmi les pays qui détiennent un gisement naturel de spiruline constituant un réel potentiel pour la recherche et l'industrie mais qui reste tout de même modestement exploité.

A travers notre travail, nous essayons de reproduire les conditions naturelles optimales à la croissance de la spiruline pour pouvoir la cultiver au sein de la station aquacole de l'ENSSMAL afin de produire une ressource riche en protéines.

Ce manuscrit est composé de 3 parties principales; la première comporte une synthèse bibliographique sur la spiruline, sa culture, ses propriétés nutritives et ses diverses utilisations dans différents domaines. La deuxième partie décrit le protocole suivi pour la mise en place d'une culture d'une variété d'*A.platensis* aussi, le matériel et les produits utilisés pour la réalisation de l'expérimentation et les méthodes d'évaluation de sa croissance. Les résultats obtenus ainsi que les discussions fournies sont assemblés dans la troisième partie du document.

Cette étude s'achève par une conclusion.

# **Etude Bibliographique**

## 1 Généralités sur les microalgues

### 1.1 Historique

Il y a 3,6 milliards d'années, durant l'ère précambrien, les premières formes de vie, les cyanobactéries, sont apparues sur terre, elles représentent le point de départ de la chaîne alimentaire et constituent le premier maillon de la production primaire (AUDINEAU, 1985). Parmi ces cyanobactéries, une microalgue bleue-verte, la spiruline. Elle est donc l'un des micro-organismes vivant le plus ancien de la planète

La spiruline a été exploitée par de nombreux peuples dans l'antiquité, puis par les Aztèques du Mexique et les Kanembous populations du lac Tchad qui la récoltaient à la surface des lacs grâce à des filets à mailles très fines (DUPIRE, 2011). Séchée, elle était utilisée comme farine pour les tortillas et gâteaux.

Depuis sa découverte, plusieurs échantillons ont été récoltés dans des lacs de la Vallée du Rift au Kenya : précisément au lac de Nakuru en 1931 par Rich F., au Tchad en 1967 par Léonard J. et Compère P., au Mexique, plusieurs observations ont été faites par de Toni J. et en Inde dans le lac de Lonar en 1990 par Pargaonkar S. (FOX, 1999).

En Algérie, la spiruline FOXBEHATAM (*Htam spp.*) est une souche d'*Arthrospira platensis* endémique du Hoggar. Elle fut découverte en 1980 dans une guelta à l'Atakor par le Dr. Boileau E. qui pensa dès sa découverte que cette algue était une espèce de spiruline. Un échantillon fut remis par la suite au Dr. FOX R., qui confirma qu'il s'agissait bien d'une spiruline. Et ce fut le Dr. HIRI A. qui a initié la culture de la FOXBEHATAM, d'où son appellation faisant référence au Dr. FOX R., Dr. BOILEAU E., et Dr. HIRI A. à Tamanrasset.

### 1.2 Définition

Microphytes ou microalgues sont des algues microscopiques qui se retrouvent généralement dans les systèmes d'eau douce et marine. Ce sont des micro-organismes unicellulaires ou pluricellulaires, procaryotes ou eucaryotes.

Les microalgues sont des êtres photosynthétiques c'est-à-dire qu'elles sont capables de produire de la matière organique à partir d'éléments minéraux grâce aux processus d'assimilation photosynthétique. Elles sont importantes pour la vie sur terre, elles produisent environ la moitié de l'oxygène atmosphérique (THURMAN, 1997).

La biodiversité des microalgues est énorme, elles représentent une ressource presque inexploitée. Il a été estimé qu'il existe environ 80 000-200 000 espèces dont environ 50 000 espèces sont décrites (STARCKS, 2012).

On distingue principalement 4 groupes de microalgues :

- Les cyanobactéries (ou cyanophytes)
- Les rhodophytes
- Les chrysophytes
- Les chlorophytes.

### 1.2.1 Cyanophytes

Ce sont des algues bleu-vertes, qui forment le groupe le plus primitif des algues. Elles sont aussi dénommées cyanobactéries en raison de leur affinité (reproduction asexuée et structure procaryote) avec les bactéries (HOFF, 2001).

Ce sont des organismes procaryotes, donc ne possèdent ni noyau ni chloroplastes. Les pigments présents dans la cellule sont nombreux : chlorophylle a et c, phycocyanine dominante bleu-verte, phycoérythrine rouge et pigments d'accompagnements, bêta carotène et xanthophylles jaunes.

Ces pigments sont diffusés dans le cytoplasme et donnent aux cellules une coloration homogène.

## 2 Spiruline *Arthrospira platensis*

La spiruline est une microalgue filamenteuse bleu-verte de 0,3 mm de long et d'un diamètre d'environ 10 µm appartenant à la classe des cyanophycées dont le nom scientifique est *Arthrospira platensis*, elle effectue la photosynthèse et prospère dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes. (JOURDAN, 2013).

Cette espèce de cyanobactérie comporte un filament multicellulaire, le plus souvent enroulé en spires d'où son nom commercial, spiruline (GIRARDIN-ANDREANI, 2005), sans hétérocystes pour fixer l'azote de l'air. Elle est appelée aussi algue bleue car, en plus du pigment vert, chlorophylle, elle possède un pigment bleu appelé phycocyanine. (FOX, 1999).

La spiruline a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de *Spirulina jenniferi platensis*. (FOX, 1999).

## 2.1 Systématique de la spiruline

La terminologie de la spiruline est assez confuse. Les différentes confusions faites par rapport à l'emploi du terme spiruline sont regroupées dans le tableau ci-contre :

**Tableau I.1:** Confusions liées au terme de spiruline

<b>Spiruline</b>	<b>Spirulina</b>	<b>Arthrospira</b>
<p>Terme vernaculaire regroupant toutes les spirulines en vente sur le marché (Spirulina non comestible et Arthrospira comestible) ;</p> <p>Nom commercial francophone de la cyanobactérie appartenant au genre Arthrospira.</p>	<p>Nom scientifique taxonomique d'une autre cyanobactérie très éloignée du genre Arthrospira qui n'est pas utilisé dans le cadre de l'alimentation ;</p> <p>Nom commercial anglophone de la cyanobactérie appartenant au genre Arthrospira.</p>	<p>Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient la spiruline utilisée dans le cadre de l'alimentation.</p>

Les deux espèces les plus connues sont :

- *Arthrospira platensis*, originaire d'Afrique
- *Arthrospira maxima* originaire d'Amérique centrale.

**Tableau I.2:** Systématique d'*Arthrospira platensis* (GUIRY et GUIRY, 2019)

<b>Embranchement :</b>	Procaryotes
<b>Règne :</b>	Eubacterie
<b>Sous règne :</b>	Negibacteria
<b>Phylum :</b>	Cyanobacteria
<b>Classe :</b>	Cyanophyceae
<b>Sous classe :</b>	Oscillatoriophyceae

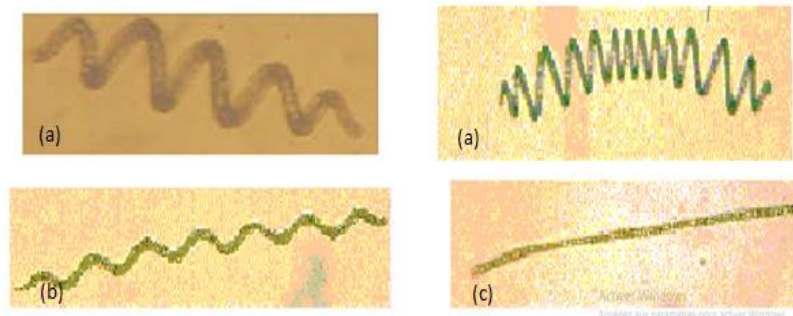
<b>Ordre :</b>	Oscillatoriales
<b>Famille :</b>	Microcoleaceae
<b>Genre :</b>	Arthrospira
<b>Espèce :</b>	<i>Arthrospira platensis</i> (GOMONT, 1892)

## 2.2 Morphologie

La spiruline se présente sous forme d'un filament pluricellulaire, d'une longueur moyenne de 250  $\mu\text{m}$ , d'un diamètre de 10  $\mu\text{m}$  et d'une couleur bleu-verte, appelé trichome ayant une forme hélicoïdale (RICHMOND, 2001 ; CLEMENT, 1975).

Il existe des spirulines de souches différentes : (Figure I.1)

- Les spiralées type Lonar (a) : les filaments sont en "queue de cochon", telle la « Lonar » ;
- Les spiralées ondulées type Paracas (b) : les souches dont les filaments sont en spirale étirée;
- Les droites type M2 (c) : désignent les souches dont les filaments sont étirés (JARISOAI, 2005).



**Figure I.1:** Différentes morphologies des filaments d'*Arthrospira platensis*

Toutes sont des *Arthrospira platensis* spp selon la dénomination scientifique (JOURDAN, 2013).

## 2.3 Biologie et reproduction de la spiruline

La spiruline est dotée de vésicules de gaz dégonflables appelées hétérocystes qui peuvent faire monter les filaments dans la colonne d'eau pour atteindre la lumière afin d'assurer la photosynthèse (WALSBY, 1973).

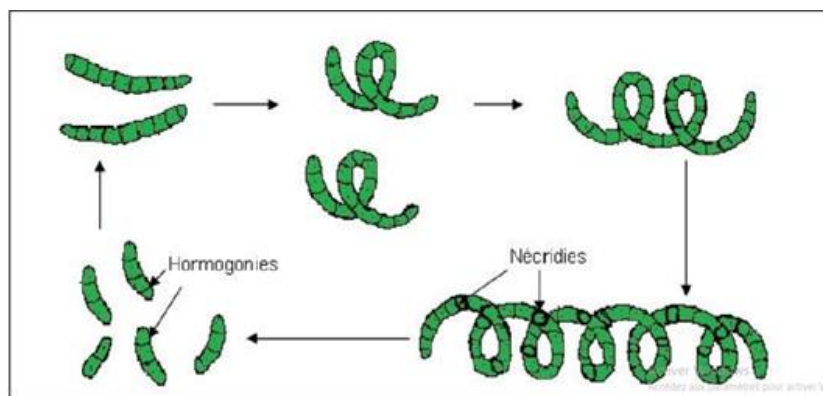
D'après **JOURDAN (2013)**, la spiruline se développe de 25% chaque jour. Sa reproduction est asexuée et s'effectue par division des filaments : scission binaire ou multiple, bourgeonnement ou fragmentation.

Le filament de spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécries qui 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.

Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale. (**CHARPY, 2008**)

La figure ci-dessous résume le cycle biologique de la spiruline :



**Figure I.2:** Cycle biologique de la Spiruline selon (**CHARPY, 2008**)

## 2.4 Ecologie et habitat de la spiruline

### - Dans le monde

La spiruline croît naturellement dans les lacs alcalins, dans le désert et à proximité des anciens cratères de volcans contenant du carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ou du bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ), d'autres minéraux et une source d'azote fixée (**FOX, 1999**).

Les conditions naturelles favorables à la croissance de la spiruline sont réunies dans la ceinture intertropicale du globe entre la latitude  $35^\circ$  nord et  $35^\circ$  Sud. (Annexe 02).

La répartition naturelle de la spiruline est fortement liée à la répartition du flamant rose nain, *Phoeniconaias minor*, qui de par ses déjections dans les lacs, fournit un milieu propice au développement de la spiruline. (Annexe 01)

Le fait que la spiruline prospère en milieu très alcalin présente deux avantages majeurs :

- Meilleure absorption du gaz carbonique de l'air ;
- Protection contre les contaminations.

La carte suivante montre les zones où la spiruline croit naturellement.



**Figure I.3:** Zones de croissance naturelle de la spiruline dans le monde (GERALDINE et Benoit, 2016)

#### - En Algérie

La spiruline FOXBEHATAM a été isolée dans le massif cristallin du Hoggar connu autrefois par ses activités volcaniques sous-marines où elle se développait en grande quantité et fut favorisée par les conditions climatiques de cette région, à savoir : une activité volcanique et une pluviométrie importante ainsi qu'une température et ensoleillement adéquat (BOILEAU, 1988).

### 2.5 Modes de la culture

Dans la nature, la spiruline n'a besoin pour croître que d'une cuvette argileuse retenant une eau saumâtre et alcaline, sous un climat chaud, et de quelques déjections animales (flamant rose nain) (FOX, 1999).

Cependant, la culture industrielle de la spiruline est intensive et technique. Elle se fait généralement dans des bassins aménagés pour favoriser cette culture.

La construction de bassins sous serre peut être plus intéressante. En effet, cet abri constitue non seulement une protection contre le froid, l'évaporation, les insectes et les poussières mais aussi contre les pluies, qui peuvent faire déborder les bassins et donc provoquer une perte, ou au moins une dilution du milieu de culture.

Il y a plusieurs façons de construire un bassin destiné à la culture de spiruline : en bâches plastique, en béton ou même en argile (JOURDAN, 2013).

### 2.5.1 Milieu de culture de la spiruline

La réussite d'une culture de microalgues dépend d'un équilibre entre les éléments nutritifs majeurs et mineurs spécifiques. Un déséquilibre dans ces nutriments entraîne rapidement l'arrêt de la croissance de la culture.

Le milieu de culture adéquat à la croissance de la spiruline dépend surtout de sa composition minérale (FOX, 1999) (Annexe 03). Ce milieu de culture doit lui apporter tous les éléments chimiques nutritifs qui lui sont nécessaires (ZARROUK, 1966) :

- Carbone (C) : apporté par le carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ou bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ).
- Azote (N) : Les sources d'azote préférées des spirulines sont l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et l'urée ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) ; mais en raison de leur toxicité, l'utilisation des nitrates est plus recommandée.
- Phosphore (P) : apporté dans le milieu par les orthophosphates par exemple : le phosphate monoammonique ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ), le phosphate dipotassique ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) ou le phosphate trisodique ( $\text{Na}_3\text{PO}_4, 12 \text{H}_2\text{O}$ ), ou encore l'acide phosphorique.
- Fer (Fe) : Le fer est apporté par une solution de sulfate de fer acidulée.
- Potassium (K) : fourni par le nitrate de potassium, le chlorure de potassium, le sulfate ou le phosphate dipotassique.
- Magnésium (mg) : La source de magnésium habituelle est le sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ ).
- Calcium (Ca) : apporté par le sulfate de calcium ou par un sel de calcium soluble (nitrate, chlorure). En cas d'ensemencement d'une nouvelle culture avec peu de spiruline, mieux vaut s'abstenir d'ajouter du calcium au début pour éviter de perdre de la semence entraînée dans les boues minérales.

On notera la possibilité d'apporter plusieurs éléments à la fois par le même produit, par exemple N et K par le nitrate de potasse, P et K par le phosphate dipotassique, ou S et Mg par le sulfate de magnésium.

Les limites de concentration admissibles pour les différents éléments dans le milieu de culture sont données en Annexe 04.

### **2.5.2 Paramètres physiques de la culture de spiruline**

Afin de réussir la culture de la spiruline, il est impératif de pouvoir reproduire les conditions naturelles optimales à sa croissance. Ainsi, les paramètres fondamentaux qui contribuent à reconstituer le climat naturel favorable à la croissance de cette microalgue sont :

#### **2.5.2.1 Température**

La spiruline ne commence à croître d'une manière appréciable qu'au dessus de 20°C. La vitesse de croissance est maximale entre 35 et 37°C. Au-delà de cette température, on risque d'avoir une destruction de la culture (qui survient après quelques heures au-delà de 43°C) (**ZARROUK, 1966**). (Annexe 05)

#### **2.5.2.2 pH**

Le pH du milieu de culture influence directement la vitesse de croissance de la spiruline. Le pH doit être compris entre 9 et 11 (**FOX, 1999**). (Annexe 06)

Le pH optimum d'un milieu de culture neuf à confectionner dépend de son utilisation :

- S'il doit être utilisé pour démarrer une nouvelle culture, son pH doit être d'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. Le natron ou le mélange carbonate + bicarbonate, ou l'eau de cendre carbonatée sont donc bien adaptés à ce cas.
- Par contre si le milieu neuf doit servir d'appoint à une culture existante, son pH peut être avantageusement voisin de 8, ce qui contribue à maintenir le pH de la culture suffisamment bas par apport de bicarbonate.

#### **2.5.2.3 Agitation du bassin**

La plupart des microalgues ont tendance à sédimenter. Il est donc nécessaire de les agiter afin d'homogénéiser, favoriser l'élimination de l'oxygène et assurer une bonne répartition de l'éclairage dans le bassin de culture.

L'agitation continue des cultures en petits récipients se fait au moyen d'un petit bullage d'air comme dans un aquarium qui a l'avantage d'apporter du gaz carbonique

L'agitation de volumes importants (> 100 litres) peut se faire au moyen d'une petite pompe d'aquarium, mais on a intérêt à ne pomper qu'un quart d'heure par heure pour ne pas abîmer les spirulines. Les souches ondulées sont beaucoup moins sensibles aux dégâts des pompes (**JOURDAN, 2013**).

#### **2.5.2.4 Lumière**

La lumière est un facteur important dans la croissance des microalgues. Une limitation ou un excès de lumière peut donc avoir des conséquences sur le développement de la spiruline, du fait que sa croissance dépend de son activité photosynthétique et donc de la quantité et de la qualité de lumière qu'elle reçoit.

Si la lumière du soleil est la source d'énergie naturelle la plus abondante, elle n'est pas contrôlable en terme d'intensité et de durée d'éclairement. L'utilisation de la lumière artificielle est donc nécessaire afin d'avoir des productions élevées et sur de longues périodes indépendamment de la saison.

La vitesse de la photosynthèse est maximale lorsque l'éclairement est compris entre 30 et 50 Klux (**ZARROUK, 1966**). (Annexe 07)

#### **2.5.2.5 Salinité**

Les limites de salinité et d'alcalinité permises sont assez larges, une salinité totale de 13 g et une alcalinité de 0,1 molécule-gramme sont recommandées; mais ces concentrations peuvent être doublées sans inconvénient. (Annexe 08)

L'alcalinité est apportée majoritairement par les carbonates et les bicarbonates de sodium qui ont d'ailleurs l'avantage d'augmenter le pH initial du milieu de culture. La salinité complémentaire est assurée par les autres éléments nutritifs.

### **2.5.3 Conditionnement et conservation**

La biomasse fraîche de spiruline produite de bonne qualité peut être directement consommée après pressage ou bien elle peut être mise en conserve (congelée, salée, sucrée ou séchée). Fraîche, elle peut se garder de deux à quelques jours au réfrigérateur, mais elle se conserve seulement si elle n'a pas été lavée après filtration (**JOURDAN, 2013**).

Cependant, la spiruline sèche peut se conserver longtemps sans perdre trop de ses qualités à condition d'être stockée en sachets bien remplis et étanches, à l'abri de la lumière, de l'air, et des fortes chaleurs. Des sachets en plastique aluminisés multicouches, thermoscellables, conviennent très bien, mais il est préférable de faire le vide dans le sachet tout en le thermoscellant : dans ce cas le produit peut se conserver 5 ans.

Si le produit doit être utilisé rapidement (moins de 3 mois), l'emballage en sachets plastique non métallisé est possible.

Les paillettes de spiruline obtenues peuvent être aussi conservées dans des boîtes métalliques ou des pots opaques. Dans ces conditions, les qualités nutritionnelles de la spiruline sont préservées pour au moins 1 an.

Une fois sèche, la spiruline ne doit jamais être réhydratée (sauf pour consommation immédiate).

Il est à noter toutefois qu'il est plus simple et préférable de consommer la spiruline fraîche directement après sa récolte puisque sa valeur nutritive baisse après le séchage et la conservation.

## 2.6 Composition et propriétés nutritives

La spiruline contient une bonne partie des nutriments essentiels pour l'homme. (**Figure I.4**)

La variation des conditions de culture impacte sur la composition biochimique de la spiruline (**ROGOWSKI, 2008**).



**Figure I.4** : Composition moyenne de la spiruline

### 2.6.1 Les protéines

Avec une teneur moyenne en protéines de 55 à 70%, la spiruline contient plus de protéines que la plupart des aliments courants et possède quasi tous les acides aminés dont ceux essentiels. A titre de comparaison, dans la viande et le poisson, la teneur moyenne en protéines est de l'ordre de 15 à 20%, dans le soja, 35% et dans les œufs, 12%. De plus, la digestibilité des protéines de la spiruline est élevée (entre 75 et 83%) du fait de l'absence de paroi cellulosique des cellules (**GAYDOU, 2004**).

### 2.6.2 Les glucides

Les polysaccharides constituent 15 à 25% de la matière sèche de la spiruline (**FALQUET, 2006**) Les glucides simples sont en très faible quantité, constituant ainsi un avantage sur le plan diététique (**BABADZHANOV et al., 2004**).

### 2.6.3 Les lipides

La spiruline est considérée comme l'une des meilleures sources alimentaires lipidiques connues d'acide gammalinoléique (oméga 6) après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) (**LUPATINI et al., 2017**).

L'acide gamma-linolénique constitue jusqu'à 40% des acides gras de la spiruline (**COHEN, 1993**).

### 2.6.4 Les vitamines

La spiruline contient de nombreuses vitamines telles que les complexes en vitamine B où seules les vitamines B5 et B8 sont absentes. Il faut noter la teneur exceptionnelle en vitamine B12 qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime végétarien (**ROGOWSKI, 2008**). Elle contient également une quantité importante de bêta-carotène ou de provitamine A convertible par l'homme en vitamine A et bénéfique pour la vision.

### 2.6.5 Minéraux et oligoéléments

Les minéraux et oligoéléments les plus importants et familiers contenus dans la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

La spiruline contient environ 1g/kg de fer hautement assimilable (**JOHNSON et SHUBERT, 1986**).

Concernant le calcium, 10g de spiruline couvrent 10% des apports nutritionnels (**ROGOWSKI, 2008**).

## 2.7 Utilisations et bienfaits (humaines et aquacoles)

Les microalgues notamment la spiruline constituent une importante source de biomasse et de composants biochimiques valorisables.

Les applications des microalgues sont nombreuses et variées. Ces applications peuvent se regrouper en trois parties :

- Alimentations humaines et animales.
- Applications industrielles.
- Applications environnementales.

### 2.7.1 Applications humaines et animales

#### - Applications humaines

En effet, la spiruline est actuellement l'une des microalgues les plus connues, étudiées et utilisées comme complément alimentaire dans de nombreux pays car on lui découvre toujours plus de qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé, tant pour les hommes que pour les animaux.

Voici quelques bienfaits de la spiruline sur la santé (**GIRARDIN, 2005 ; FALQUET, 1986**) :

- Antioxydation et antitumorale liée à la phycocyanine ;
- Renforcement du système immunitaire grâce aux polysaccharides en augmentant l'activation des macrophages, l'activité des cellules T;
- Diminution du taux de cholestérol grâce aux acides gras polyinsaturés oméga-3 et oméga-6 (Prévention des risques cardiovasculaires grâce à leur rôle hypocholestérolémiant);
- Amélioration des capacités sportives : par ses teneurs en fer, en vitamine B12, et en  $\beta$ -carotène qui facilitent la récupération;
- Lutte contre l'asthénie par son apport en oligoéléments et vitamines ;
- Activité anticoagulante liée aux polysaccharides spécifiques : Spirulane Calcique (Sp-Ca) et au Spirulane Sodique (Sp-Na) (**LEE, 2001**).

#### - Applications animales

La Spiruline est aussi utilisée comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture, en agroalimentaire, pour des effets très spécifiques :

- La spiruline est utilisée comme complément alimentaire chez les animaux de compagnie (chiens, chats, les chevaux, les vaches, les poules, les poissons et les oiseaux) (**HENRIKSON, 1994**) ;
- Des études sur les poissons d'aquarium et la crevette ont montré les effets bénéfiques d'*A.platensis* dans la favorisation la croissance et la fertilité (**Kim et al., 2006**) ;
- Renforcer les défenses immunitaires En aquaculture, la Spiruline est ajoutée aux granulés dans la nourriture des poissons d'élevage, plus souvent soumis à des infections virales et/ou bactériennes que les poissons sauvages. Watanuki et *al.* (2006) ont mis en évidence l'effet immunostimulant d'*A.platensis* chez la carpe *Cyprinus carpio* ;
- Augmenter la pigmentation grâce à ses pigments, en aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement (**JAMES et GROSS. 2006**) et en aquaculture pour améliorer la pigmentation des crevettes et des poissons (**REGUNATHAN et WESLEY., 2006**).
- Elevage larvaire : Elle est utilisée à hauteur de 1 à 10% de l'alimentation pour augmenter la résistance immunologique des larves (**HENRIKSON, 1994**) et utilisée aussi dans la production des proies vivantes comme l'Artémia et les daphnies.

### 2.7.2 Applications industrielles

La spiruline est considérée aussi comme une matière première dans la fabrication de produits parapharmaceutiques :

- La phycocyanine est utilisée dans cosmétologie pour la variété de couleurs qu'elle peut donner mélangée avec d'autres composés.

### 2.7.3 Applications environnementales

La spiruline sert à la fabrication de biocarburant ou algocarburants :

- La production de bioéthanol à partir des microalgues est obtenue par un procédé de fermentation (fermentation de l'amidon en bioéthanol);
- La production de biodiesel par extraction des huiles puisqu'elle est riche en lipides.

## 2.8 Anomalies, maladies et risques de contamination

### 2.8.1 Anomalies

Si la culture contient beaucoup de spirulines cassées en petits fragments, ou détruites, le milieu de culture devient alors sale, trouble et moussant jaune ou brun et fermente.

Cela peut être dû à :

- Un excès de lumière (surtout matinale) ;
- Une agitation brutale ;
- Un manque de potassium.

Des spirulines anormalement longues peuvent être signe d'un manque de fer, à moins qu'il s'agisse d'une culture en croissance très faible (JOURDAN, 2013).

### 2.8.2 Maladies

Les filaments de spiruline peuvent présenter des déformations, ou une boursouffure, ou alors des excréctions jaunes à une extrémité ou sur un côté des filaments, les spirulines sont dites étripées. (Figure I.5)

Il est possible que cela résulte d'une attaque par des virus cyanophages.

Dans la pratique, ces anomalies disparaissent d'elles-mêmes au bout de quelques jours de marche dans des conditions normales ; il est rare que cela aboutisse à la mort de la culture.



Figure I.5 : Spirulines étripées vues au microscope (JOURDAN, 2013)

### 2.8.3 Contamination

La principale préoccupation, qui pourrait altérer la sécurité de l'utilisation de la spiruline, est le risque de contamination par d'autres microalgues ou par des larves et des insectes.

**- Contamination par des vers et des insectes**

Certains vers et insectes sont capables de vivre en parasite et d'envahir même une culture en bonne santé comme :

- Larves de la mouche Ephydra (petite mouche brune) ;
- Larves de moustiques ;
- Zooplancton (rotifères spécialement brachyonus, cyanophages et amibes capables de manger les spirulines).

Les larves de moustique et les rotifères mangent les spirulines droites, mais pas les spiralées, type Lonar (**JOURDAN, 2013**).

**- Contamination par des microorganismes**

Il est prudent d'examiner un échantillon de culture dans un laboratoire à l'aide d'un microscope optique afin de détecter une éventuelle contamination par d'autres microalgues (**FOX, 1999; JOURDAN, 2013**), il peut s'agir de :

- Chlorelles ou Oocystis;
- Oscillatoria.
- Anabaena;
- Microcystis ;
- Une diatomée navicula (algues monocellulaires contenant de la silice).

Des boues peuvent se former et remonter à la surface après agitation.

Ces boues sont un mélange de :

- Minéraux insolubles (carbonates et/ou phosphates) sous forme de cristaux en aiguille ;
- Produits de décomposition de spirulines mortes (contenant de la chlorophylle A et surtout des caroténoïdes qui donnent aux boues une couleur brune) ;
- Exopolysaccharides (EPS) ; (Annexe 09)
- Des filaments incolores s'agissant de cyanobactérie appelée phormidium.

# **Matériel et méthodes**

Différentes étapes et manipulations qui ont permis d'établir un suivi de la culture de la spiruline *Arthrospira platensis* au sein de la ferme expérimentale de l'ENSSMAL sont décrites dans cette partie.

## 1 Matériel biologique : spiruline

L'espèce qui nous intéresse pour ce travail est une souche d'*Arthrospira platensis* appelée Spiruline de Tamanrasset (*HTam spp.*) (BOILEAU, 1988).

### 1.1 Souche utilisée

Dans le but de mener un essai de culture de spiruline à des fins expérimentales, la souche spiruline, précédemment citée, issue d'une ferme de production à Tamanrasset nous a été fournie par son propriétaire le Dr. HIRI. (Figure II.1)

La souche nous a été envoyée le 26/04/2019 à raison de 500 ml de spiruline fraîche dans une bouteille d'un litre. À sa réception, la bouteille a été placée dans un endroit lumineux et ensoleillé sous une température ne dépassant pas les 39°C.

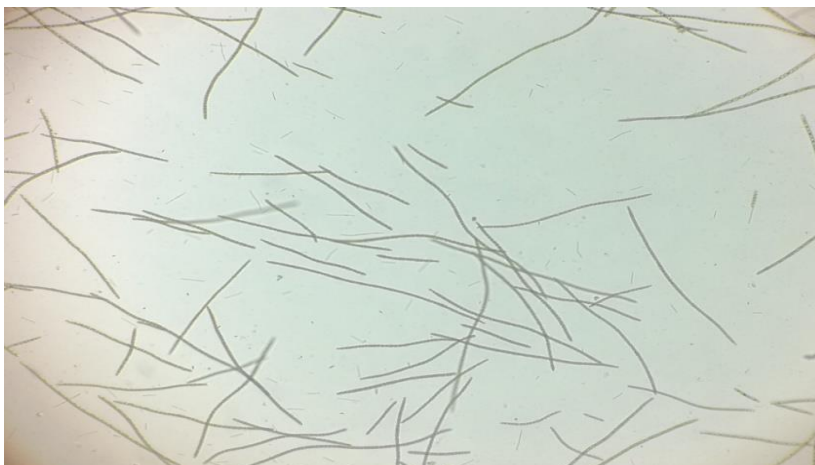
Le lendemain de sa réception, diverses observations microscopiques ont été effectuées au sein du laboratoire d'aquaculture au niveau de l'ENSSMAL.



**Figure II.1** : Photo prise au labo après versement de la souche dans un b cher

## 1.2 Observation microscopique

Avant l'ensemencement de la culture, les filaments de la spiruline FOXBEHATAM ont été observés au microscope optique (**Figures II.2** et **II.3**) à différents grossissements ( $G \times 10 \times 0,25$  et  $G \times 40 \times 0,65$ , respectivement) afin d'apprécier l'aspect morphologique de la souche à cultiver.



**Figure II. 2:** Spiruline *HTam spp.* vue au microscope optique  $G \times 10 \times 0,25$



**Figure II. 3:** Spiruline *HTam spp.* vue au microscope optique  $G \times 40 \times 0,65$

## 2 Culture de spiruline

### 2.1 Matériel et produits utilisés

Durant la période expérimentale, le matériel utilisé pour la conduite et l'entretien de la culture de spiruline est listé comme suit :

- 3 aquariums (3,5, 22 et 127 L)
- Résistance avec thermostat pour réguler la température
- Thermomètre (type **HANNA HI 9040**)
- pH mètre (type **HI 208**)
- Bulleuse d'aquarium
- Une lampe néon (**PHILIPS TL-D 18W/546765**)
- Disque de Secchi
- Cellule de Malassez
- Balance de précision (type **KERN ABS 220-4N**)
- Microscope optique (type **OPTIKA microscopes ITALIE**)
- Spectrophotomètre (type **UV-1800 SHIMADZU**)
- Lames et lamelles
- Filtre (toile à fine maille 25 $\mu$  à 50  $\mu$ )
- Tamis 300  $\mu$  et 100  $\mu$
- Spatule
- Eprouvette
- Becher

## 2.2 Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture de référence pour la culture de la spiruline est le milieu Zarrouk (**ZARROUK, 1966**). Néanmoins, la complexité de ce milieu ainsi que l'indisponibilité de certains éléments nous ont emmené à trouver d'autres alternatives.

La composition du milieu de culture ZARROUK est citée dans l'Annexe 10.

De ce fait, nous avons utilisé le milieu de culture utilisé par Dr. HIRI afin d'assurer les mêmes conditions optimales à la croissance de notre souche.

Une quantité de 1,791 kg de milieu de culture de cet mélange a été fournie par le Dr HIRI en vue de la dissoudre dans 100 L d'eau.

**Tableau II.1:** Composition du milieu de culture de Dr. HIRI (g/l)

Elément	Quantité
Natron	16
Sel	1

Phosphates de potassium	0.6
Sulfates de magnésium	0.1
Sulfates d'ammonium	0.6
Urée azotée	0.1
Sulfates de fer	0.01

Avant sa préparation, le milieu de culture a été broyé au moyen d'un mixeur (**Figure II.4**) afin de faciliter son homogénéisation et sa dissolution dans l'eau.



**Figure II.4:** Broyage du milieu de culture

Le milieu de culture mixé est ensuite dilué progressivement dans 100 L d'eau potable du robinet.

L'eau utilisée pour la préparation de notre milieu de culture est une eau du robinet potable. (**JOURDAN, 2013**).

Une fois les produits mélangés totalement dans l'eau, on a obtenu une solution natronnée propice au développement de la spiruline.

Le pH du milieu de culture préparé est ensuite mesuré, sa valeur indiquait 9,05.

Une fois préparé, le milieu de culture est conservé dans des jerricans opaques bien scellés de 30 L et à l'abri de la lumière pour une durée d'utilisation d'environ 2 mois (**Figure II.5**).

**Nota 01 :** Pour éviter le risque de contamination par des algues étrangères, il est recommandé de conserver le milieu de culture préalablement dilué peu de temps, fermé et à l'obscurité (**JOURDAN, 2013**).



Figure II. 5: Préparation du milieu de culture

### 2.3 Les étapes de la culture

La culture de la spiruline passe par plusieurs étapes qui permettent d’obtenir à la fin une spiruline sèche qui peut être commercialisée sous diverses formes (poudre, gélules, etc.) destinée à la consommation animale et surtout humaine.

La préparation du milieu et la culture de spiruline se sont déroulées au sein du laboratoire d’aquaculture et de la ferme aquacole de l’ENSSMAL, en suivant le protocole résumé en Tableau II.2.

Tableau II.2 : Protocole de l’expérimentation

Etapes	Ensemencement	Observations microscopiques	Mesure des paramètres physiques	Mesure des paramètres biométriques
<b>Déroulement périodique</b>	J1-J20 : 1 <sup>er</sup> ensemencement J21-J48 : 2 <sup>ème</sup> ensemencement J49-J88 : 3 <sup>ème</sup> ensemencement	Hebdomadairement	Quotidiennement	Hebdomadairement

Dans le but de réaliser l'expérience, nous avons suivi les mêmes étapes que celles décrites par **JOURDAN (2013)** et recommandées par le Dr HIRI.

### 2.3.1 Ensemencement

Avant son ensemencement, la souche a été stockée pendant 24 heures dans une bouteille ouverte et remplie à moitié et cela sans détériorer la qualité de la spiruline. A noter qu'il est permis de stocker quelques jours et transporter une semence très concentrée (3 à 4 g/l), à condition de l'agiter et de l'aérer au moins de temps à autre sinon elle fermente et dégage de mauvaises odeurs (**JOURDAN, 2013**).

Nous avons utilisé des aquariums (03) en verre transparent afin de permettre à la culture de recevoir un maximum de lumière favorisant ainsi le processus de la photosynthèse.

- Dimensions du premier aquarium : 19 cm de long, 11 cm de large et 15 cm de hauteur ;
- Dimensions du deuxième aquarium : 44 cm de long, 25 cm de large et 20 cm de hauteur ;
- Dimensions du troisième aquarium : 78 cm de long, 38 cm de large et 43 cm de hauteur.

Etant donné que l'ensemencement a été réalisé à partir d'un volume de 500 ml de spiruline et que notre objectif est de multiplier le volume initial, on a procédé à un ensemencement successif.

Pour ce faire, on transvase à chaque ensemencement la souche dans 5 fois son volume initial de milieu de culture préparé neuf.

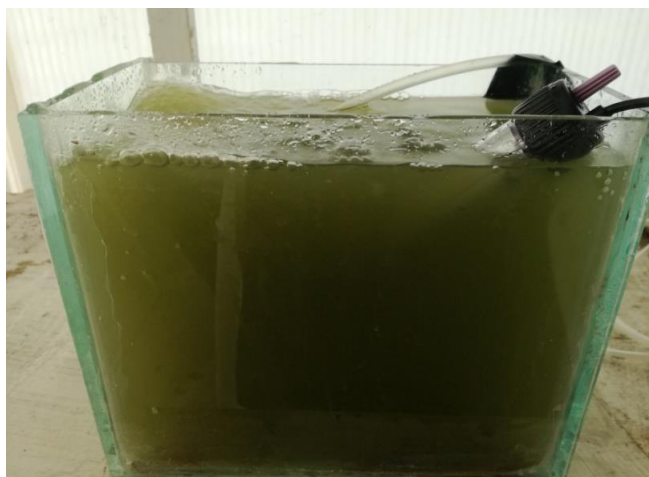
Le passage d'un ensemencement à un autre a été déterminé au moyen d'un disque de Secchi qui nous renseigne sur la concentration de la culture en filaments de spiruline. Cette dernière doit être comprise entre 2 et 3 cm. Selon **JOURDAN (2013)**, pour réussir le démarrage d'une culture, il est recommandé de démarrer aussi concentré que possible en spiruline.

#### 2.3.1.1 Premier ensemencement

L'ensemencement de la culture a eu lieu le 27/04/2019, avec une petite quantité de semence, le volume initial est de 500 ml de spiruline avec une concentration initiale de 2,4 g/l.

Le démarrage de la culture s'est fait dans un petit aquarium ayant une contenance de 3,5 L (**Figure II.6**) en mélangeant les 500 ml de la semence dans 2,5 L de milieu de culture (5 fois le volume initial de la souche).

**Nota 02** : Suite une augmentation excessive de la température de 43.3°C survenu le 4<sup>ème</sup> jour suivant le démarrage de la culture, la résistance a été enlevée.



**Figure II. 6:** Premier ensemencement de spiruline dans un aquarium de 3.5L

Un rajout de 1,5 L de milieu de culture neuf s'est avéré nécessaire pour remettre la culture à son niveau initial et éviter le séchage de la culture après une perte de la moitié de la culture par évaporation au bout de 4 jours de culture.

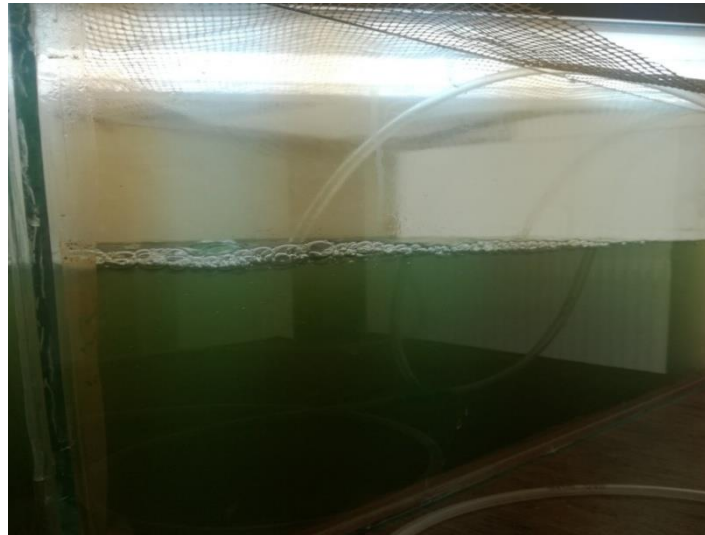


**Figure II.7:** Rajout de milieu de culture après une forte évaporation de la culture

### 2.3.1.2 Deuxième ensemencement

Une période de 20 jours après le premier ensemencement, le volume a été augmenté jusqu'à atteindre 12,5 L équivalent à 5 fois le volume initial du milieu de culture.

Pour cela, on a opté pour un aquarium de 22 L (**Figure II.8**).



**Figure II.8** : Deuxième ensemencement de spiruline dans un aquarium de 22 L

### 2.3.1.3 Troisième ensemencement (Figure II.9)

Le troisième ensemencement a eu lieu 27 jours après le deuxième. Cela s'est fait dans un aquarium de 127L.



**Figure II.9** : Troisième ensemencement de spiruline dans un aquarium de 127 L

Les aquariums ont été placés dans un endroit exposé au soleil et ont été munis de :

- Résistance avec thermostat réglée à 25°C.
- Une bulleuse d'air.
- Une lampe néon d'une capacité de 18 watt.

Tout au long de la période d'ensemencement, certains paramètres ont été mesurés quotidiennement, à savoir : température, pH et lumière ou hebdomadairement, à savoir : densité optique, nombre de filaments et concentration ainsi que le taux de croissance afin de pouvoir contrôler et surveiller l'état de la culture et la croissance de la spiruline.

### 2.3.2 Filtration et essorage

La récolte consiste à filtrer une partie de la culture sur une toile fine (maille 25 à 50  $\mu\text{m}$ ).

En raison de la non disponibilité d'un filtre commercial conçu spécialement pour la filtration de la spiruline, un tissu en soie a été utilisé comme alternatif afin de procéder à la récolte suivant les recommandations citées par **JOURDAN (2013)**.

La récolte a eu lieu le matin puisque la teneur de la spiruline en protéines y est généralement plus élevée que le soir ; lorsque la concentration de la culture passera au-dessous d'un Secchi de 3 cm.

Avant de faire passer la culture à travers le filtre en soie, la culture est passée par un tamis de mailles de 300  $\mu\text{m}$  destiné à intercepter les corps étrangers tels que : insectes, larves, boues ou grumeaux de spirulines ; puis un tamis de mailles plus fines (100  $\mu\text{m}$ ) pour arrêter d'éventuels rotifères comme le montre la **Figure II.10**



**Figure III.10:** Tamis 100 $\mu\text{m}$  et 300 $\mu\text{m}$

Le matériel est assemblé selon la **Figure II.11**.



**Figure II.11:** Disposition de la série de filtre pour la récolte de spiruline

*Nota 03* : Il est à noter que les étapes suivantes sont décrites uniquement à titre explicatif (Extrusion et séchage) et qu'elles n'ont pas pu être réalisées durant notre expérimentation.

Après la filtration le filtre se laisse égoutter. Le pressage suit immédiatement la filtration, cette étape est faite en comprimant à la main la pâte de spiruline obtenue dite « biomasse ».

### 2.3.3 Extrusion

La biomasse issue du pressage est extrudée en « spaghetti » en une seule couche sur une moustiquaire en nylon ou une grille en plastique (à maille de l'ordre de 5 mm) à l'aide d'un décorateur de gâteau muni d'une filière percée de trous de 1 à 2 mm de diamètre, puis elle est séchée.

### 2.3.4 Séchage

Une fois pressée, la pâte de spiruline contient environ 25% de matière sèche. Son poids se réduit donc d'environ  $\frac{3}{4}$  au séchage. Le séchage est le seul moyen sûr pour conserver et pour distribuer la spiruline sans chaîne de froid. Il doit être suffisamment rapide pour éviter toutes fermentations (**Jourdan, 2013**).

Le séchage doit être mené le plus rapidement possible (moins de 6 heures), on évitera de dépasser les 60°C pour ne pas détruire les vitamines et acides gras essentiels.

Si l'atmosphère est bien sèche, on peut sécher à l'ombre simplement dans un courant d'air à température ambiante

La spiruline bien séchée est craquante, se détachant aisément du support de séchage et se laissant facilement piler ou broyer au moulin en une poudre plus ou moins fine.

### 3 Suivi des caractéristiques de la spiruline

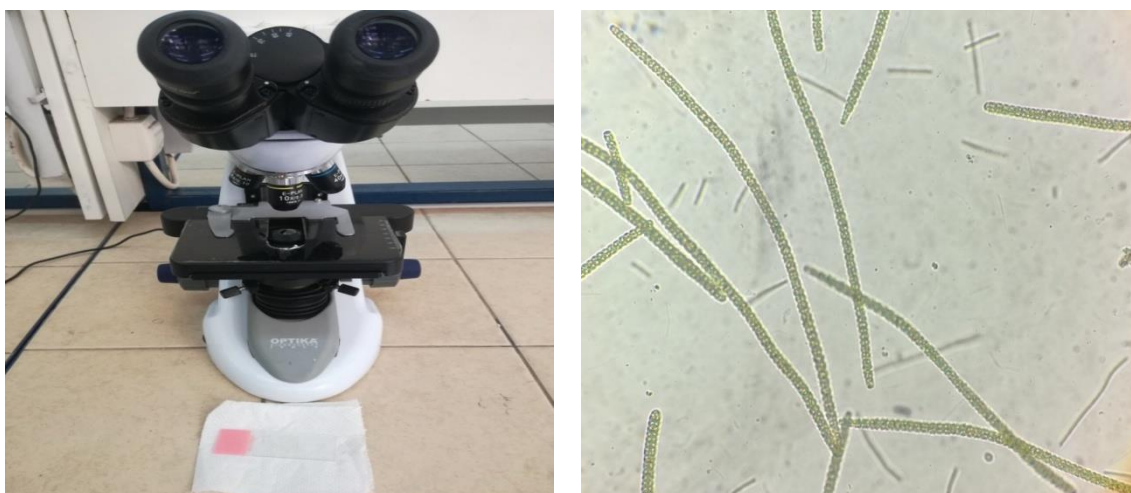
La surveillance et le suivi de l'état de la spiruline peut se faire à l'œil nu en observant la variation de la couleur de la culture et/ou sous microscope pour estimer la morphologie des filaments.

#### 3.1 Couleur

Le diagnostic de la couleur fournit généralement une bonne appréciation de l'état de la culture et de la croissance des spirulines. Une culture en bonne santé est généralement caractérisée par une couleur verte plus ou moins foncée (en fonction de la concentration en spiruline) (**Figure II.12**).

#### 3.2 Morphologie

Un échantillon de spiruline est observé sous microscope optique (**Figure II.12**) quotidiennement afin de surveiller la culture et de pouvoir déceler les anomalies et détecter les contaminants en cas de leur présence.



**Figure II.12** : Observation des filaments sous microscope optique (OPTIKA microscopes ITALIE)

### 4 Suivi des paramètres physico-chimique de la culture

Après le démarrage de la culture, on procède au suivi et contrôle de certains paramètres quotidiennement ou hebdomadairement.

Les valeurs de ces paramètres doivent être compatibles aux normes (valeurs optimales) qu'exige la spiruline pour sa bonne croissance.

Si une valeur mesurée ne respectant pas les normes, une correction doit être apportée sur le coup.

### 4.1 Température

La température est l'un des paramètres les plus importants pour la culture de spiruline puisque elle influence directement sa vitesse de croissance.

Le prélèvement de la température se fait à l'aide d'un thermomètre avec une sonde électrolyte de type (**HANNA HI 9040**). L'appareil affiche la valeur de la température en (°C) (**Figure II.13**)

Les prises de température sont effectuées quotidiennement tout au long de la période de l'expérience à raison de 3 prises par jour pour ensuite avoir une moyenne journalière de la température dans la culture et sont ensuite enregistrées dans un tableau.



**Figure II.13:** Thermomètre (type **HANNA HI 9040**)

### 4.2 pH

Le pH de l'eau dans le bassin de culture de spiruline est toujours alcalin, et comprise entre 9 et 11 (basique). Le prélèvement du pH se fait au quotidien au moyen d'un pH mètre de (type **HI 208**).



**Figure II.14:** pH mètre de (type **HI 208**)

### 4.3 Agitation

L'agitation de la culture est assurée au moyen d'une bulleuse d'aquarium. Elle est maintenue en continu durant toute la période de la culture pour permettre le déplacement des filaments dans l'aquarium.

Pour assurer un bon brassage de la culture, une agitation manuelle supplémentaire à l'aide d'une spatule en bois est pratiquée 2 à 3 fois par jours comme le montre la **Figure II.15**.



**Figure II.15:** Agitation manuelle de la culture au moyen d'une spatule en bois

### 4.4 Lumière

La lumière est l'un des facteurs limitant pour le développement de la spiruline puisqu'elle a une influence directe sur la vitesse de la photosynthèse.

En plus de la lumière naturelle que reçoit la culture, une source de lumière artificielle est apportée à l'aide d'une lampe néon 18 Watt placée en dessus de la culture pour assurer un éclairage suffisant pour la croissance de la spiruline.

Faute de non disponibilité d'un luxmètre, l'estimation de la quantité de lumière que reçoit la culture est faite par une application mobile (Light Meter) qui donne des valeurs approximatives d'éclairage en (**Lux**).



**Figure II.16** : Lampe néon (**PHILIPS TL-D 18W/546765**) utilisée comme source artificielle de lumière

## 5 Suivi des paramètres biométriques de la culture

Lors d'une culture de microalgues, à savoir la spiruline, le suivi des paramètres biométriques figure dans la liste des paramètres à prendre en considération.

Il y a plusieurs moyens d'évaluation de la quantité de microalgues présentes dans les cultures, soit par la densité optique ou bien par comptage de nombre de cellules (**BARNABE, 1989**).

### 5.1 Densité optique

La spectrophotométrie est une technique d'analyse qualitative et quantitative de substances absorbant un rayonnement électromagnétique. Elle consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique (DO) d'une substance chimique donnée, généralement en solution.



**Figure II.17** : Spectrophotomètre (type **UV-1800 SHIMADZU**) utilisé pour la mesure de la DO

La DO est mesurée au moyen d'un spectrophotomètre optique (**Figure II.18**) en suivant les étapes suivantes :

- Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur une quantité de la culture et l'introduire dans une cuve en quartz.
- Prélever une quantité de milieu de culture et l'introduire dans une 2<sup>ème</sup> cuve en quartz qui servira de blanc.
- Mesurer la densité optique à une longueur d'onde de 560 nm (**ZARROUK, 1966**).
- Tracer la courbe qui représente la cinétique de la croissance (l'absorbance en fonction du temps).

La concentration en spiruline est ensuite déduite à partir de la DO puisque 1 unité de densité optique correspond à 0,7 g de spiruline par litre (**ZARROUK, 1966**).

## 5.2 Dénombrement des filaments

Le comptage des filaments *d'A.platensis* se fait sous microscope optique à l'aide d'un hématimètre (lame Malassez) décrite en Annexe 11 (**Figure II.18**).



**Figure II.18:** Cellule de comptage (cellule de Malassez)

Les étapes de comptage de cellules sont comme suit :

- Homogénéiser le liquide à analyser (la culture de spiruline) ;

- Déposer une lamelle sur la cellule de Malassez;
- Remplir la chambre de comptage avec l'échantillon à l'aide d'une pipette Pasteur. La goutte ne doit pas déborder dans les rigoles de l'hématimètre et doit recouvrir complètement et d'un seul coup toute la surface quadrillée de l'hématimètre;
- Attendre au moins 5-10 minutes, avant d'entreprendre le comptage (les éléments cellulaires doivent sédimenter);
- Observer à l'objectif  $\times 10$  pour repérer la position du quadrillage, et vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter;
- Observer ensuite à l'objectif  $\times 40$  pour réaliser le comptage.

Il existe une convention indiquant que si les cellules touchent la partie supérieure ou la partie gauche du cadre, elles sont comptabilisées mais si elles touchent la partie inférieure et droite, elles ne le sont pas.

Le calcul du nombre de cellules est donné selon l'équation suivante :

$$\text{Nombre de cellules} = n / V \text{ (cellules/ml)}$$

Où ;

n : nombre de cellules comptées

V : volume de comptage

### 5.3 Mesure de la concentration

La concentration d'une culture peut être évaluée par l'intensité de sa couleur. On utilise pour cela un disque de Secchi (**Figure II.19**) : il s'agit d'une règle graduée à l'extrémité de laquelle se trouve fixé perpendiculairement un petit disque blanc.

Le disque de Secchi gradué est plongé dans la culture après son homogénéisation, la profondeur, en centimètres, où le disque cesse d'être visible est notée.

Une culture est diluée si le disque de Secchi reste visible au delà de 5-6 cm de profondeur; une valeur de 2-3 cm correspond à une culture prête à la production. Des valeurs inférieures à 2cm indiquent qu'il est nécessaire de diluer la culture, ou de récolter.



**Figure II.19** : Disque de Secchi

# **Résultats et discussions**

Ce chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus lors du suivi de la culture d'*Arthrospira platensis* ; entre autre, des observations microscopiques et le suivi des paramètres physico-chimiques et biométriques.

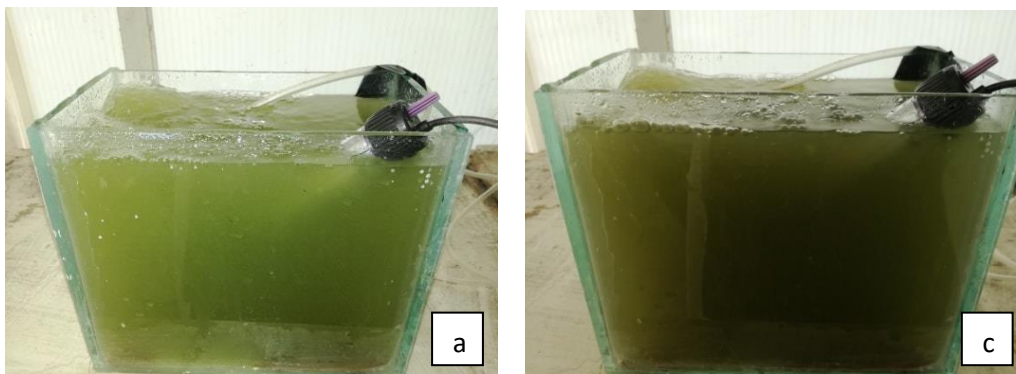
Les résultats de ce travail ont été comparés avec ceux obtenus par **HOCINI (2017)**, ayant réalisé une culture de la même espèce durant une période avoisinante à la nôtre.

## 1 Observations macroscopiques

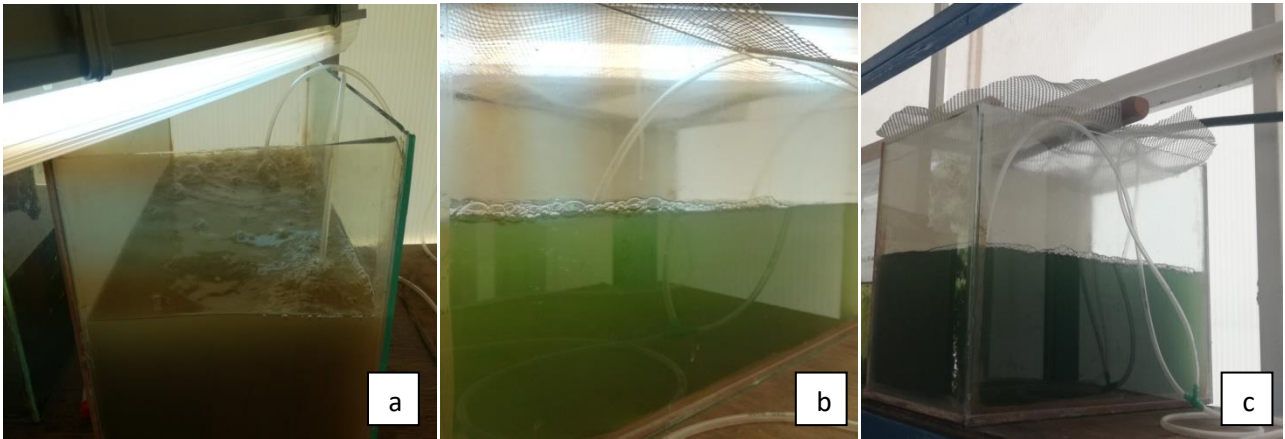
D'après le suivi macroscopique de la culture de la spiruline, nous avons constaté un changement de couleur durant les 3 étapes de l'ensemencement. Un bon développement d'une culture algale doit être forcément accompagné par un changement de couleur significatif. De ce fait le passage d'une culture d'un vert clair à un vert foncé reflète une augmentation de la concentration de la spiruline.

Les figures ci-dessous reflètent le changement de la couleur de la culture ainsi que l'évolution de la concentration de la spiruline durant les trois étapes de l'ensemencement.

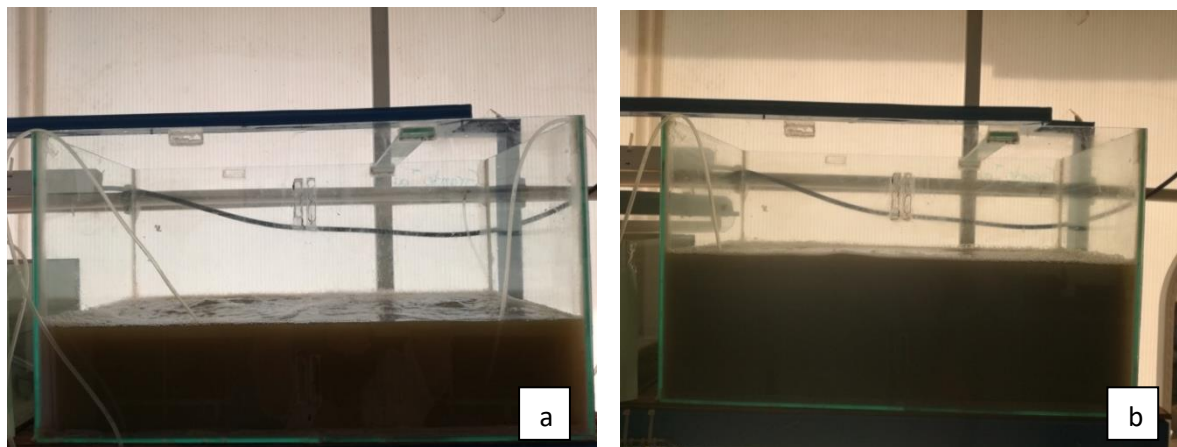
(**a** : début de l'ensemencement, culture peu concentrée ; **b** : culture moyennement concentrée ; **c** : culture concentrée).



**Figure III.1:** Evolution de la couleur de la culture durant le 1<sup>er</sup> ensemencement



**Figure III.2 :** Evolution de la couleur de la culture durant le 2<sup>ème</sup> ensemencement

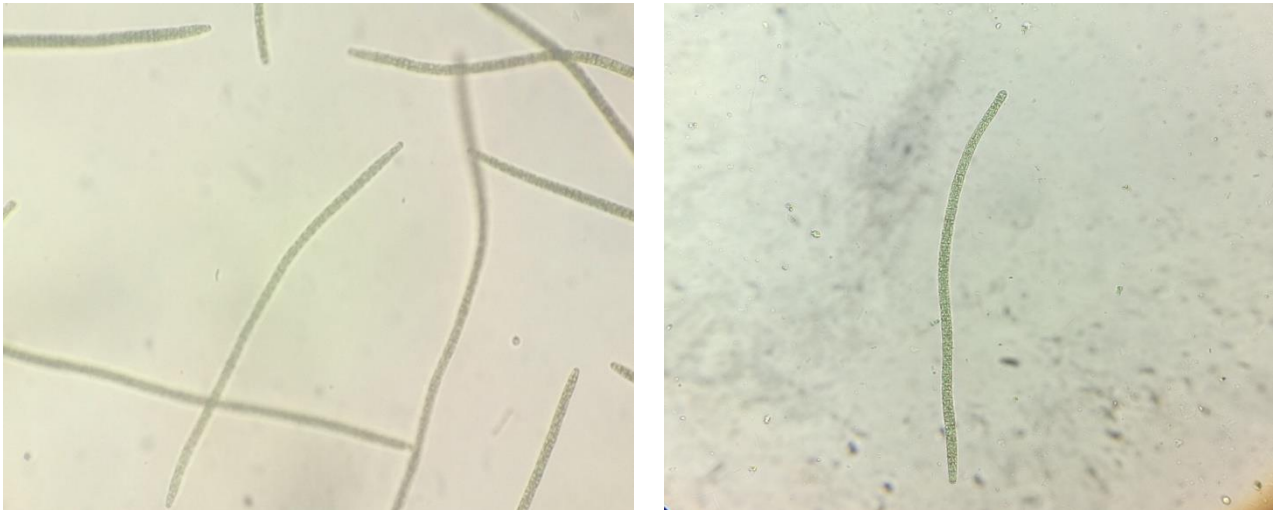


**Figure III.3:** Evolution de la couleur de la culture durant le 3<sup>ème</sup> ensemencement

## 2 Observations microscopiques

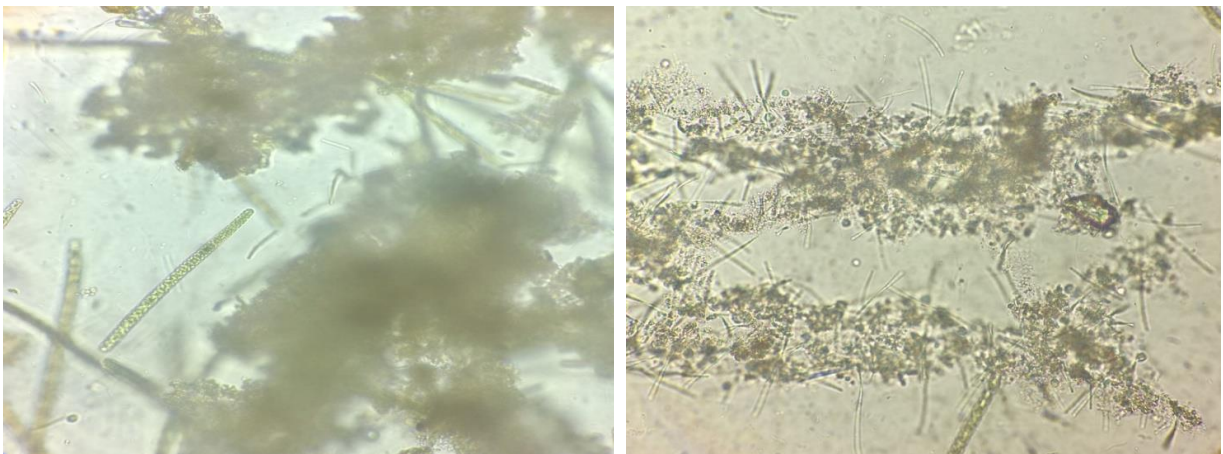
Les observations microscopiques ont permis en premier lieu d'apprécier la morphologie des filaments de spiruline de Tamanrasset *Htam spp.* et d'évaluer leur croissance ; et en deuxième lieu de surveiller la culture et de détecter les anomalies et/ou les contaminants en cas de présence.

Dès sa réception, une première observation d'un échantillon de la souche *Htam spp.* à l'aide d'un microscope optique, a permis de confirmer qu'il s'agissait d'une spiruline droite de type M2 comme l'a mentionné le Dr. HIRI (fournisseur de la souche) (**Figure III.4**).



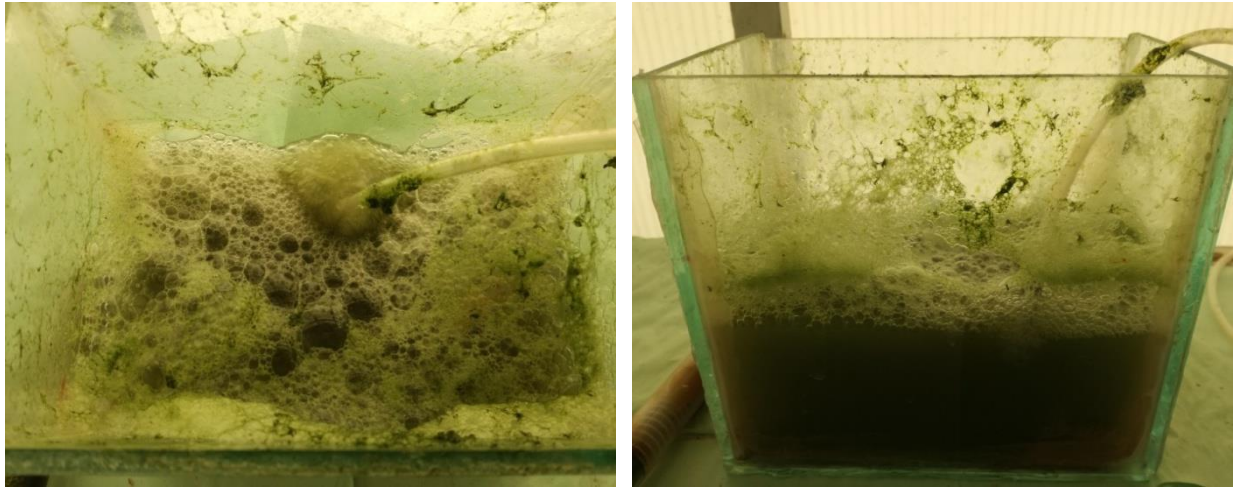
**Figure III.4:** Morphologie de filament d'*A. platensis* type M2 observé au microscope optique (G×10×40)

Une série d'observations microscopiques (1 fois par semaine) a permis de surveiller les changements morphologiques de la spiruline tout au long de la période de la culture (3 mois). Les figures ci-dessous montrent les différentes variations qu'ont subi les filaments pendant l'étape de l'ensemencement.



**Figure III.5:** Filaments de spiruline éclatés observés au microscope optique (G×10×40)

L'observation microscopique au 4<sup>ème</sup> jour après l'ensemencement a révélé la présence d'un amas de filaments éclatés (**Figure III.5**). Ceci était accompagné de la formation d'une couche de mousse à la surface de l'aquarium (**Figure III.6**) ainsi que de grumeaux. (**Figure III.7**)



**Figure III.6:** Formation d'une couche de mousse à la surface de l'aquarium



**Figure III.7:** Formation de grumeaux au fond de l'aquarium

Les aspects observés sous microscope ont coïncidé avec le pic de température de 43,4°C enregistré au même jour (J4) (**Figure III.8**). D'après **JOURDAN, (2013)**, une température dépassant 40°C est considérée létale pour la spiruline (**Figure III.8**).



**Figure III.8:** Pic de température de 43,4°C enregistré le 4<sup>ème</sup> jour de l'ensemencement

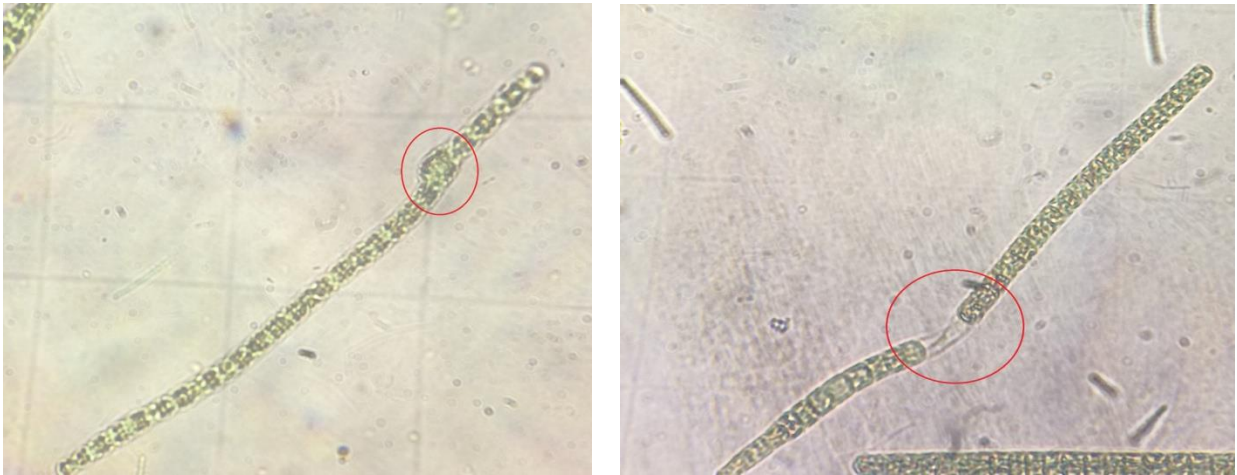
Cette augmentation brutale de température causée par une résistance à thermostat défectueux qui a induit l'évaporation de 1,5L du milieu de culture.

Etant donné que le volume de la culture était réduit à moitié, la vitesse de l'agitation assurée au début était très forte et cela avait pour conséquence la perte de 70% des filaments vivants.

Les filaments de spiruline éclatés se sont ensuite déposés et se sont transformés en boues organiques brunes d'où la présence de grumeaux au fond de l'aquarium.

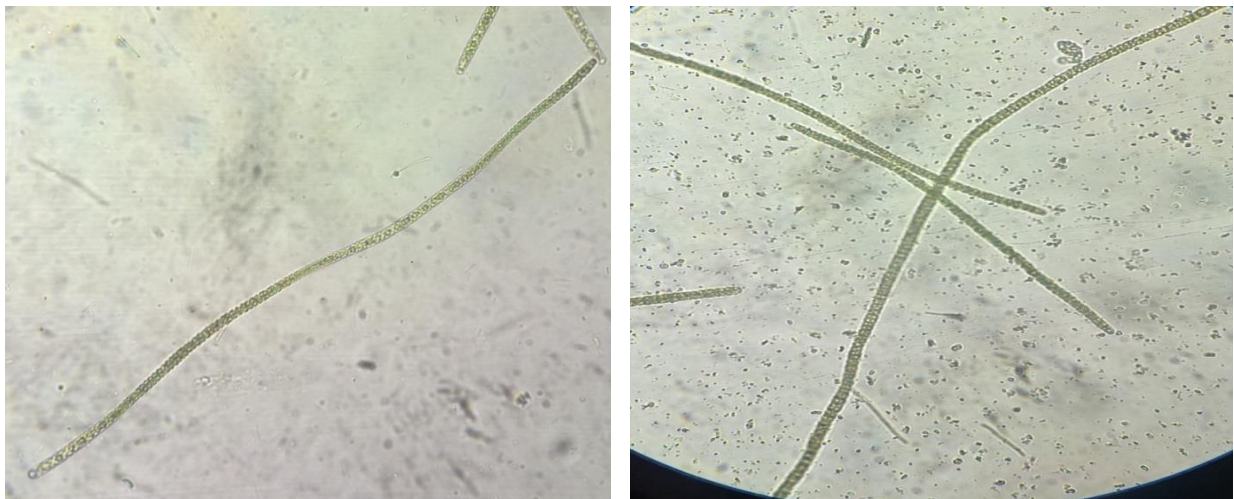
Ces derniers ont été éliminés par tamisage à l'aide d'une épuisette (**Figure III.7**) pour éviter le risque de perte des filaments restants et intacts (**JOURDAN, 2013**). La résistance ayant le thermostat défectueux a été retirée immédiatement de l'aquarium pour garder la culture à température ambiante durant le reste de la période expérimentale.

Une semaine après cet incident (J12), plusieurs observations microscopiques ont témoigné la présence de filaments en phase de division cellulaire. Cela était un signe d'une régénération de la culture (**Figure III.9**).



**Figure III.9:** Division cellulaire des filaments d'*A.platensis* observée sous microscope optique (G×10×40)

Cependant, à partir du 2<sup>ème</sup> ensemencement (J20), des filaments de spiruline anormalement longs ont été observés (**Figure III.10**). Cet agrandissement des filaments a été décrit par **JOURDAN (2013)** comme suite à un manque de fer ou éventuellement un signe d'une croissance très lente puisqu'elles ne se divisent pas assez (conditions défavorables).



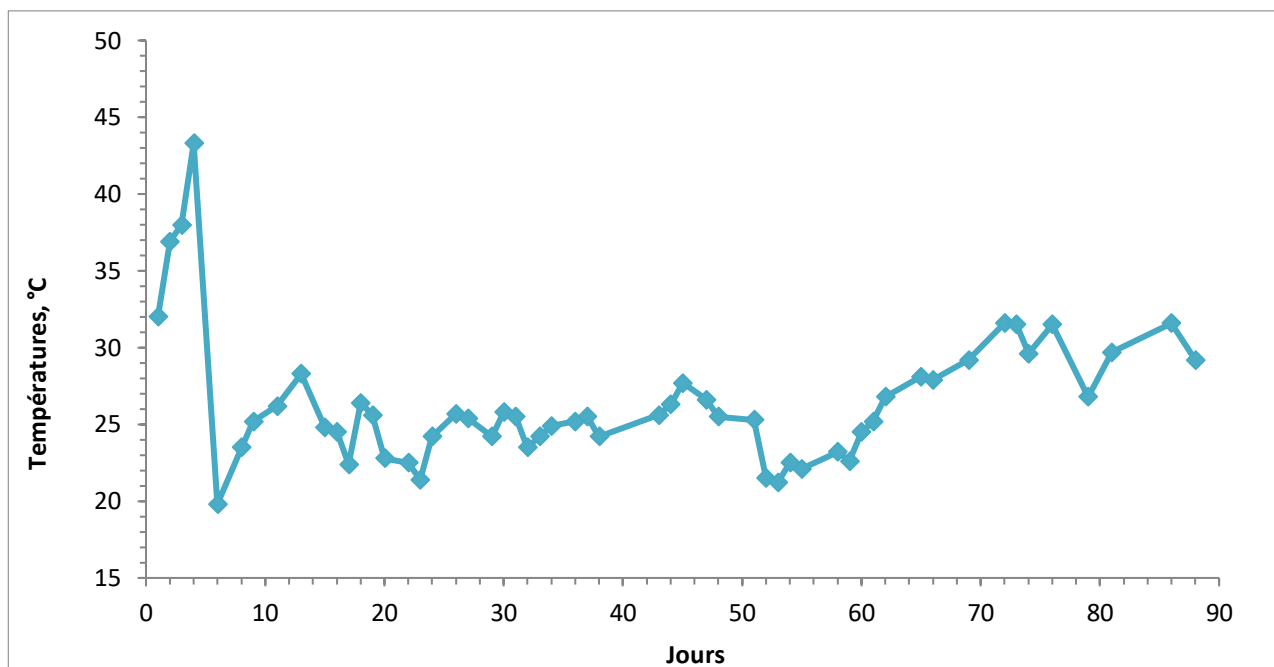
**Figure III.10 :** Filaments de spiruline très longs observés au microscope optique (G×10×40)

### 3 Evolution des paramètres physico-chimiques

La mesure des paramètres physiques d'une culture de microalgues (la spiruline) permet de déterminer les conditions optimales de son développement.

### 3.1 Température

Le graphe ci-dessous (**Figure III.11**) représente les différentes valeurs de température observées durant la période de culture.



**Figure III.11** : Evolution de la température durant le période de la culture

Nous tenons à rappeler que durant les premiers jours de l'ensemencement, la culture était munie d'une résistance réglée à  $30^{\circ}\text{C}$ . En raison du choc thermique survenu le 4<sup>ème</sup> jour, la résistance a été retirée et la culture de spiruline a été placée dans des conditions de température ambiante pour le reste de l'expérience.

D'après la **Figure III.11**, les valeurs sont comprises entre un minimum de  $19,8^{\circ}\text{C}$  enregistré le 5<sup>ème</sup> jour et un maximum le 4<sup>ème</sup> jour de  $43,4^{\circ}\text{C}$  avec une moyenne de  $26,5^{\circ}\text{C}$ .

La valeur maximale est due à un incident comme évoqué précédemment. La valeur minimale a été enregistrée le lendemain suite à une chute de température due au débranchement de la résistance à thermostat défectueux et la baisse des températures nocturnes durant cette période. Cet écart de température avait pour effet de favoriser la formation de grumeaux et le dépôt des filaments de spiruline selon **FOX (1999)**.

Les valeurs de température enregistrées après le 5<sup>ème</sup> jour semblent être comprises dans un intervalle de température se rapportant aux valeurs favorables à la croissance de la spiruline ( $20\text{--}37^{\circ}\text{C}$ ). A

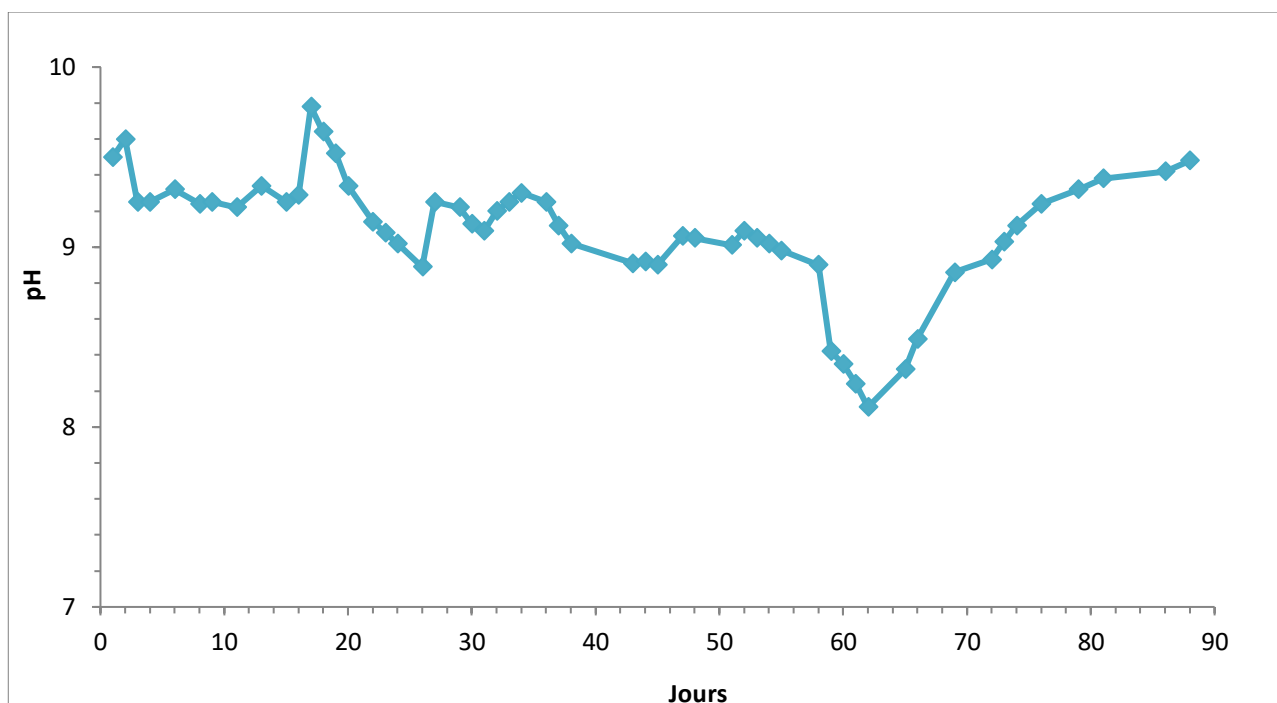
partir du 6<sup>ème</sup> jour expérimental et malgré le respect des valeurs de températures adéquates à la culture de spiruline, ce n'était pas suffisant d'atteindre sa croissance optimale.

Par conséquent, ces valeurs n'ont pas été suffisantes pour favoriser la régénération de la culture.

Le calcul du nombre de filaments ainsi que la mesure de la concentration ont permis de suivre la croissance des filaments de spiruline durant la période expérimentale.

### 3.2 pH

La **Figure III.12** ci-dessous montre l'évolution des valeurs de pH oscillant entre **8,1** et un maximum de **9,8** avec une moyenne calculée de **9,1** et un pH initial de **9,5**.



**Figure III.12:** Evolution du pH durant la période de la culture

Le pH du milieu de culture varie proportionnellement en fonction de sa teneur en carbonates et bicarbonates (dans notre cas en natron utilisé comme source de carbone) et varie proportionnellement en fonction de la photosynthèse (**FOX, 1999**).

De ce fait, le pH dans des conditions de culture optimale a tendance à augmenter jusqu'à atteindre une valeur de **11,0** qui signifie que la culture est limitée en carbone et qu'il faut en rajouter le milieu de culture. Cependant, dans notre cas, le pH initial de la culture étant de **9,5** ; ce dernier a demeuré

plus au moins stable jusqu'au 17<sup>ème</sup> jour expérimental où une valeur de **9,8** a été enregistrée (**Figure III.12**).

Les valeurs du pH ont ensuite diminué progressivement jusqu'à atteindre la valeur minimale de **8,1** au 62<sup>ème</sup> jour.

Ces résultats peuvent-être expliqués en premier lieu, par la formation de grumeaux suite à la perte d'une partie (70%) de la spiruline.

De ce fait, cette perte a un effet considérable sur la vitesse de photosynthèse qui a vraisemblablement diminuée engendrant une diminution de consommation du carbone apporté par le natron. Sans compter, l'apport supplémentaire de carbone par le biais des échanges entre le milieu de culture et l'air.

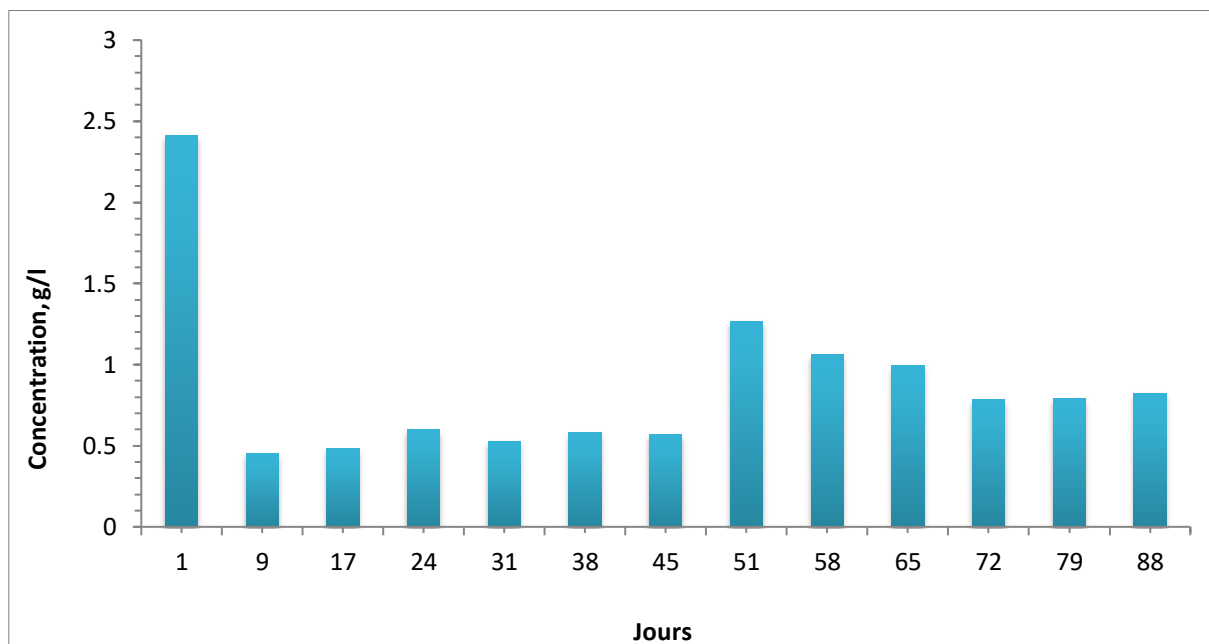
Par conséquent, la combinaison de ces facteurs a diminué le pH au lieu de l'augmenter. Une autre hypothèse peut également expliquer cette baisse de pH : une part des éléments nutritifs, entre autre le natron, ont été insolubles et se sont déposés au fond de l'aquarium. Selon **JOURDAN (2013)**, les boues sont un mélange de minéraux insolubles (carbonates et/ou phosphates), de produits de décomposition de spirulines détruites (contenant de la chlorophylle-a et surtout des caroténoïdes qui donnent aux boues une couleur brune caractéristique).

Les 20 derniers jours de la culture (J64) ont montré une augmentation relative de pH atteignant la valeur initialement enregistrée (**9,5**). Ceci peut être expliqué par une reprise de consommation du carbone et la présence d'une flore contaminante qui détournait en sa faveur la consommation des nutriments du milieu de culture, préalablement étaient destinés à la croissance de la spiruline.

#### **4 Suivi des paramètres biométriques**

Le suivi des paramètres biométriques d'une culture de microalgues renseigne sur sa croissance et sa productivité.

#### 4.1 Concentration



**Figure III.13 :** Evolution de la concentration de la spiruline en fonction des jours

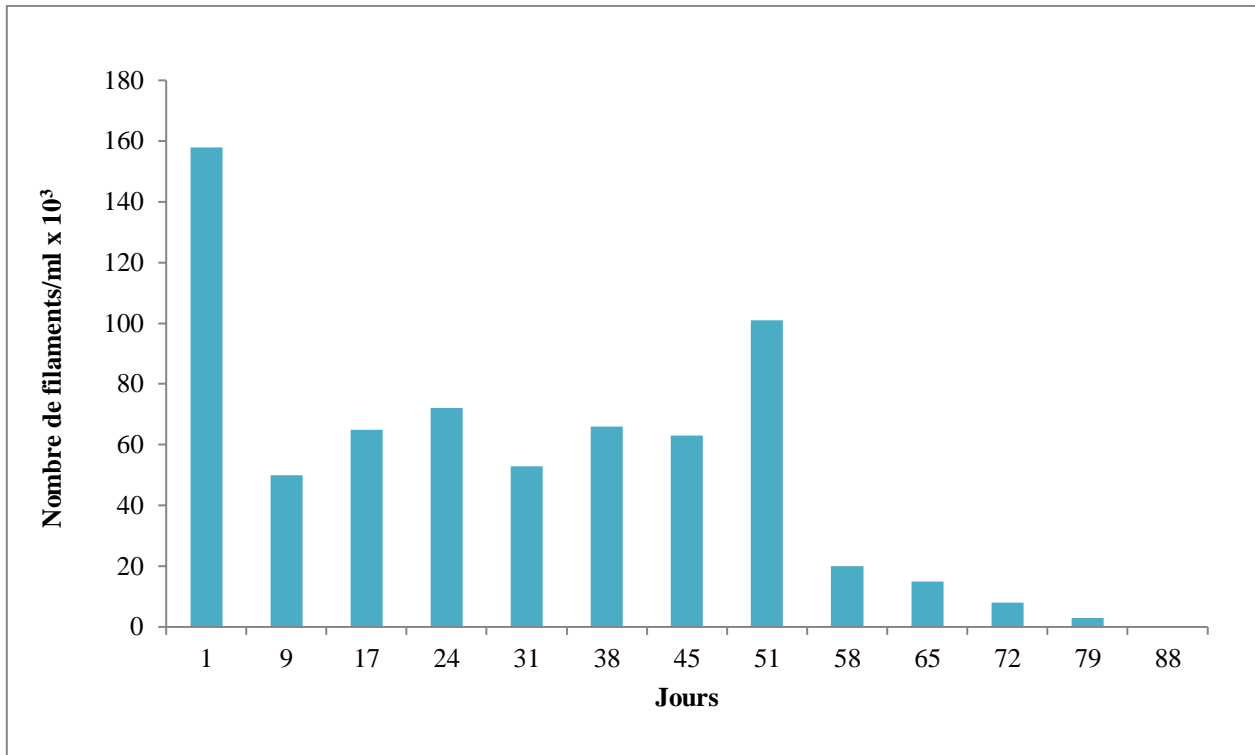
Etant donné que la densité optique (**DO**) a été mesurée une fois par semaine, les valeurs de la concentration donnée en g/l sont calculées en se référant aux résultats de **ZARROUK (1966)**, qui stipulent qu'une unité de DO correspond à 0,7 g/l de spiruline.

D'après la **Figure III.13**, à première vue, une importante fluctuation de valeurs de la concentration de la spiruline entre le début de l'ensemencement (J1) et le reste de la période expérimentale est observée.

Le démarrage de la culture s'est fait à partir d'une concentration en spiruline de 2,4g/l. Une semaine après, cette concentration s'est réduite au quart atteignant une valeur minimale de 0,4g/l pour reprendre à partir de la 7<sup>ème</sup> semaine (J51) avec une valeur de 1,26g/l quasi constante jusqu'à la fin de l'essai.

#### 4.2 Nombre de filaments

Le nombre de filaments a été calculé à l'aide d'une cellule de Malassez. Cette dernière donne une estimation plus précise de la concentration et la croissance de spiruline surtout en présence de contaminants.



**Figure III.14** : Evolution du nombre des filaments de spiruline dans la culture

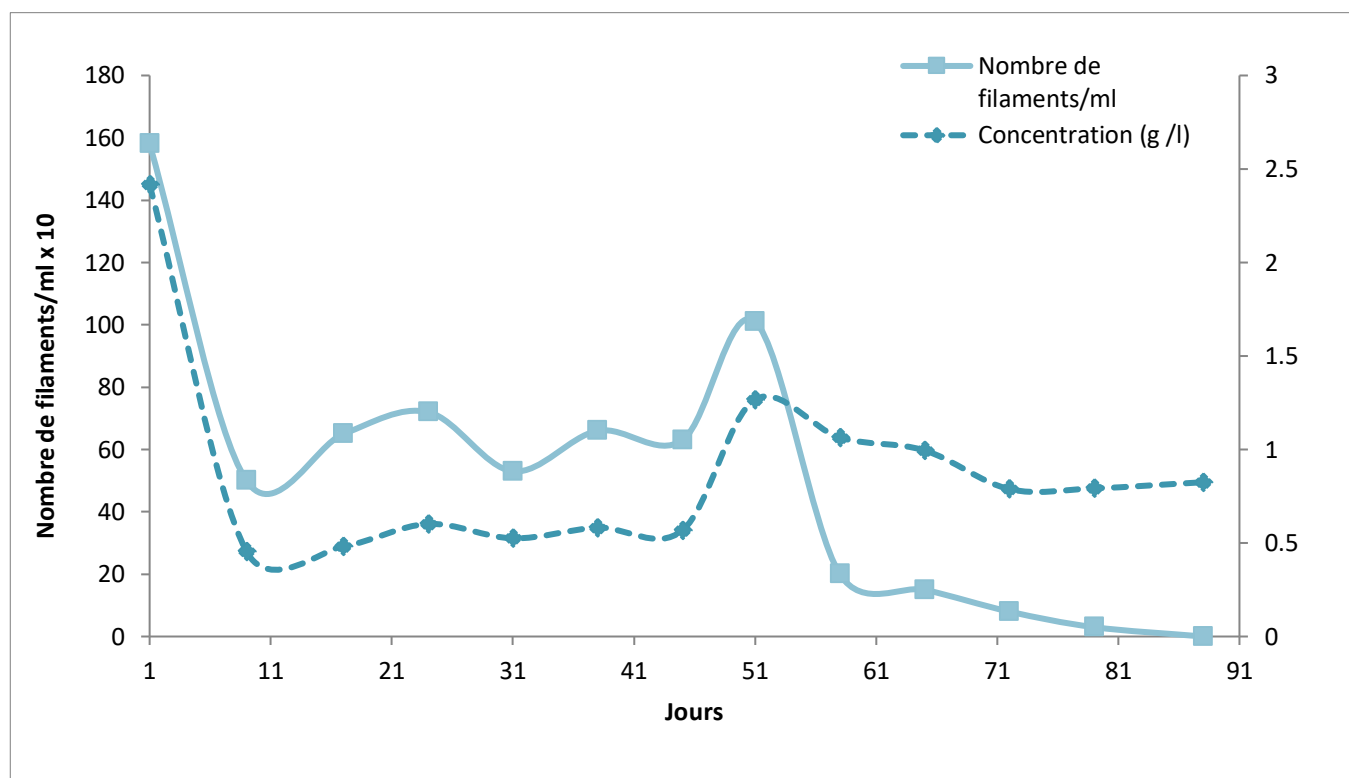
La **Figure III.14** montre la variation du nombre de cellules/ml de milieu de culture durant la période expérimentale.

Le nombre de cellules initiales était de  $158 \times 10^3$  cellules/ml. Une semaine après (J9), ce dernier a chuté jusqu'à une valeur de  $50 \times 10^3$  cellules/ml. Une augmentation a été enregistrée la 8<sup>ème</sup> semaine (J51) atteignant une valeur de  $101 \times 10^3$  cellules/ml. Le nombre de filaments calculés durant le reste de l'expérience ont témoigné d'une baisse brutale jusqu'à une valeur nulle.

La **Figure III.15** met en avant l'évolution de la concentration de la spiruline et le nombre de filaments d'*A.platensis* en fonction des jours. Durant les 7 premières semaines correspondant au 1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> ensemencement (J1 et J51), l'évolution de ces deux paramètres était régulière.

Le pic de température enregistré au J4 était à l'origine de la chute des valeurs de la concentration en spiruline et le nombre de filaments. Ces derniers ont légèrement augmenté par la suite (J11) témoignant une éventuelle régénération de la culture. Désormais, une baisse brutale du nombre de filaments a été enregistrée atteignant à la fin une valeur nulle. Contrairement à la concentration qui a gardé une cadence moyennement stable.

De ce fait, cette différence ne peut être expliquée que par la présence de contaminants en quantité importante à partir de la 7<sup>ème</sup> semaine (J51) et qui sont à l'origine des concentrations mesurées.



**Figure III.15:** Evolution de la concentration de spiruline et du nombre de filaments dans la culture

## 5 Contaminations

Le stress thermique survenu au 4<sup>ème</sup> jour de l'ensemencement a été accompagné par la formation continue de grumeaux et d'un ralentissement de la croissance de la spiruline. En considérant aussi, les variations de température (**Figure III.11**) et pH plus au moins défavorables (**Figure III.12**). Ces facteurs ont induit l'envahissement de la culture par des germes microscopiques contaminants à partir de la 2<sup>ème</sup> étape de l'ensemencement (J20), même si le milieu de culture était basique mais pas assez suffisant pour protéger la spiruline de la contamination.

Les figures ci-après montrent les différentes observations effectuées et témoignent de la présence de maladie et contaminants.

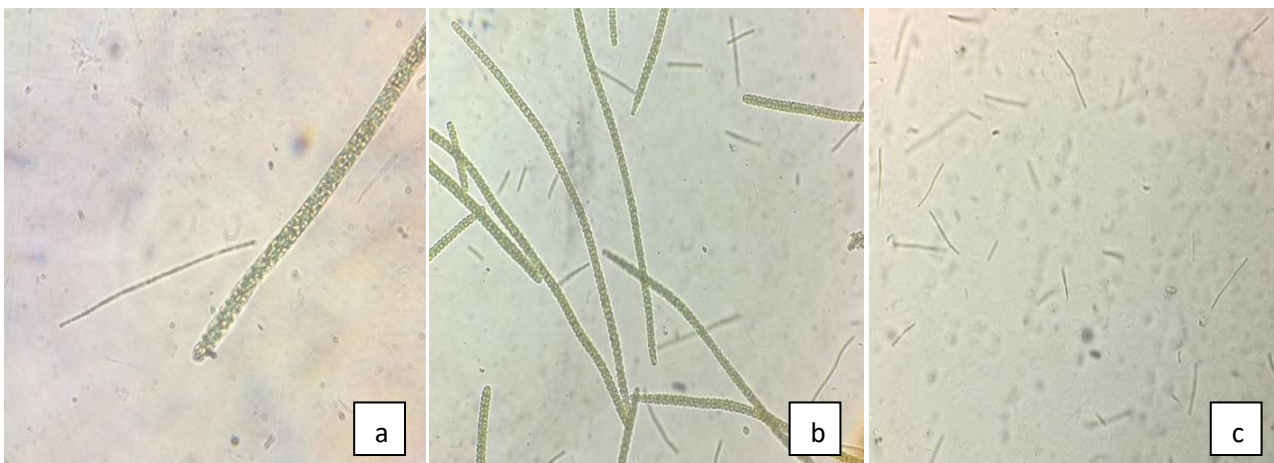
La **figure III.16** montre des filaments de spiruline présentant des boursouffures avec des excréments jaunes à leur extrémité, sur le côté et même sur la totalité du filament. Selon **JOURDAN (2013)**, les spirulines sont dites étripées. Cela peut être causé par une attaque d'un virus cyanophage.



**Figure III.16:** Filaments d'*A.platensis* étripés observés sous microscope optique (G×10×40)

Des filaments de diamètre inférieur à celui des *A.platensis*, incolores mais qui apparaissent parfois verts (**Figure III.17.a**) ont été observés. Selon **FOX (1999)**, il pourrait s'agir d'une cyanobactérie appelée « Phormidium », avec un diamètre évalué à 1,5  $\mu\text{m}$ . Cet organisme ne montre pas de toxicité.

L'apparition de cette cyanobactérie, dans la culture, est en relation avec la formation continue et excessive de boues. Même si ces dernières ont été fréquemment tamisées, les phormidium présentaient une croissance exponentielle en dépit de celle des *A. platensis* et a fini par envahir la culture (**Figure III.17.b**).



**Figure III.17:** Contamination par Phormidium observé au microscope optique (G×10×40)

D'autres observations microscopiques de contaminants sont regroupées dans l'annexe 13. Des hypothèses ont été avancées afin de pouvoir identifier ces derniers.

## 6 Filtration

Suite aux résultats précédemment exposés et expliqués, la récolte n'a pas permis d'obtenir une quantité significative pour l'utiliser dans le reste des étapes de l'expérimentation. En définitive nous n'avons pas pu aller au-delà de l'étape de la filtration.



**Figure III.18:** Filtration de la spiruline

## 7 Etude comparative

Afin d'apporter plus d'informations, une comparaison des résultats exposés et expliqués précédemment a été effectuée avec ceux obtenus par **HOCINI (2017)** qui a réalisé une culture de la même souche *Htam spp.* dans des conditions similaires aux nôtres (Période : MAI-JUIN 2017).

La culture a été effectuée dans un aquarium en verre de 30 cm de long, 15 cm de large et 15 cm de hauteur ayant une capacité de 6,75 L. Ce dernier a servi à l'ensemencement d'un volume de 500 ml de spiruline *Htam spp.* dans le milieu de culture de M. HIRI.

La culture a été placée dans des conditions de température et de lumière naturelles, l'agitation quant à elle, a été assurée par une bulleuse d'aquarium.

Le suivi de la culture a été réalisé par des mesures quotidiennes des paramètres physico-chimiques (température et pH) ainsi que des mesures quotidiennes de DO à 560 nm et un dénombrement des filaments.

D'après les résultats obtenus lors de cette étude, nous constatons nettement une similarité avec ceux que nous avons obtenus : notamment les valeurs des paramètres physico-chimiques. Nous avons remarqué que la valeur moyenne de la température lors des deux essais était significativement loin de la valeur optimale estimée à 35°C dans des conditions favorables ce qui a engendré probablement une baisse du potentiel hydrogène (**Tableau III.2**).

**Tableau III.1** : Tableau comparatif des valeurs moyennes des paramètres physiques

<b>Paramètres physiques</b>	<b>Température moyenne</b>	<b>pH moyen</b>
Culture présentée	26,5	9,5
HOCINI (2017)	21,2	9,4

**Tableau III.2** : Tableau comparatif des valeurs initiales et finales des paramètres biométriques

<b>Paramètre biométriques</b>	<b>Concentration (g/l)</b>		<b>Nombre de filaments/ml</b>	
	<b>Valeur initiale</b>	<b>Valeur finale</b>	<b>Valeur initiale</b>	<b>Valeur finale</b>
Culture présentée	2,42	0,83	158 000	0
<b>HOCINI (2017)</b>	0,07	0,16	216 000	100 000

Les valeurs de températures et pH enregistrées durant les deux essais ont eu pour effet un résultat similaire en terme de décroissance des valeurs du nombre de filaments/ml (**Tableau III.3**) atteignant une valeur nulle dans notre travail.

Ceci est dû éventuellement à la contamination du milieu par d'autres microorganismes qui ont épuisé les éléments nutritifs du milieu de culture entraînant ainsi une dégénérescence des spirulines mises en culture.

# **Conclusion**

### Conclusion

L'intérêt accru accordé à l'*Arthrospira platensis* est justifié d'une part par la facilité de sa culture, sa durée de production courte, sa haute valeur nutritive, ses bienfaits thérapeutiques; et d'autre part par sa production respectueuse de l'environnement (consommation réduite en eau et énergies, absence de pesticides et engrais, etc.).

De ce fait, la culture de la spiruline est un domaine prometteur, rentable et durable, pourrait constituer un créneau socio-économique, créateur de richesse et d'emplois ; mais qui nécessite une bonne maîtrise du cycle de la culture, renforcé par un appui technique et un investissement dans la recherche des techniques de culture.

L'objectif de notre travail était d'effectuer un essai de culture de spiruline, qui prolifère d'une manière optimale dans le sud Algérien (Hoggar, Tamanrasset) mises dans des conditions différentes de son habitat naturel.

Pour cela, nous avons réalisé une culture au sein de la ferme expérimentale de l'ENSSMAL. Notre essai s'est étalé sur une période de 3 mois alors qu'un cycle de production d'*A.platensis* allant de l'ensemencement jusqu'à la récolte peut être réalisé en 30 jours. Nous rappelons que l'ensemencement de la souche s'est fait en 3 étapes. Dans des conditions de croissance optimales, le passage d'un ensemencement à un autre peut se faire en une semaine en fonction de la concentration du milieu estimée au moyen d'un disque de Secchi. Cependant dans notre cas, il nous a fallu 20 jours pour passer au 2<sup>ème</sup> ensemencement et 27 jours pour effectuer le 3<sup>ème</sup>.

Le ralentissement de la croissance de la spiruline jusqu'à son arrêt définitif et mortalité de la culture est à l'origine de cette longue période de culture. Ces résultats non satisfaisants ont été causés en premier lieu par le choc thermique survenu suite au premier ensemencement qui a induit la destruction d'une grande partie de la culture (70%) et en deuxième lieu par la formation continue de grumeaux qui ont favorisé l'apparition de contaminants. La contamination a persisté et cela est expliqué par les conditions de température et la baisse du pH.

Dans le cadre de la réalisation de notre étude, la maîtrise des cultures de microalgues passe par un travail rigoureux et constant afin d'assurer le bon maintien de la culture. Les résultats

obtenus démontrent que la température et le pH sont des facteurs limitant pour la bonne croissance et le développement de la spiruline dans un milieu contrôlé.

Il est vrai que la culture de la spiruline est relativement simple et facile mais l'apparition de contamination par d'autres microorganismes constitue un défi majeur pour la réussite de la culture donc il est primordial de bien surveiller la culture et d'agir immédiatement en présence de contamination afin de les éliminer.

Compte tenu de toutes ces données, notre travail reste préliminaire, il serait donc avantageux de poursuivre la présente étude tout en élargissant le champ des expérimentations sur d'autres volets tels que la maîtrise de la culture dans des conditions artificielles, varier les milieux de culture et les paramètres et aussi l'étude de techniques d'extraction et de valorisation.

Suite à cette première expérience, nous tenons à présenter quelques recommandations que nous jugeons utiles pour des futurs travaux :

- Conserver toujours une petite quantité de culture à l'abri (quelques litres) en guise de sécurité ;
- Travailler avec un matériel neuf consacré uniquement à la culture de spiruline ;
- Surveiller la température et le pH de prêt ;
- Même s'il est possible de conserver le milieu de culture pour une courte durée, il est préférable d'ensemencer avec un milieu de culture neuf pour minimiser le risque de contamination de la culture.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

AntennaTechnology (2002). Livret pédagogique Accompagnement du film : « La spiruline contre la malnutrition » (Madurai - Inde).

Association française pour l'algologie appliquée (AFAA), 1982. Actes du premier symposium sur la spirulina. *Geiler de l'AFAA*.

AUDINEAU B., 1985. Production d'algues unicellulaire. *IFREMER bibliothèque de Palavas*.

BABADZHANOV A., ABDUSAMATOVA N., YUSUPOVA M., FAIZULLAEVA N., MEZHLUMYAN J., et MALIKOVA M., 2004. « Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan », *Chem. Nat. Compd.*, vol. 40, no 3 : pp 276–279.

BARNABE G., 1989. Aquaculture (volume 1). *Ed. Lavoisier* : pp 184-201.

CHARPY L., 2008. Colloque International « la Spiruline et le développement », formation et transfert de technologie, en matière de culture de Spiruline: 28 - 29 et 30 avril 2008. *Toliara SUD-OUEST MADAGASCAR* : pp 131-134.

CLEMENT G., 1975. Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *maxima*. *Alim. 29* : pp 477-488.

COHEN Z., REUNGJITCHACHAWALI M., SIANGDUNG W., TANTICHAROEN M., 1993. Production and partial purification of  $\gamma$ -linolenic acid and some pigments from *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology*, 5: pp 109-115.

DUPIRE J. 2011. La spiruline un super aliment. 151 p.

FALQUET J., 1996. Spiruline : aspects nutritionnels. *Antenna Technologie. Vol. 29, r. de Neuchâtel CH-1201 Genève, Suisse* : pp 1-16.

FOX R. D., 1999. La spiruline: Technique, pratique et promesse. *Édi sud, Aix-en-Provence*. 246 p.

GAYDOU E. M., 2004. Les constituants alimentaires des cyanobactéries. *Colloque International sur les cyanobactéries pour la santé, la science et le développement, Ile des Embiez var, France* : 13 p.

- GERALDINE L. et Benoit L., 2016. Les incroyables vertus de la spiruline. *Ed. Jouvence* : 144 p.
- GIRARDIN-ANDREANI C., 2005. Spiruline: système sanguin, système immunitaire et cancer, *Phytothérapie, vol. 3, no 4* : pp 158-161.
- GOMONT M., 1892. Monographie des Oscillariées (Nostocacées homocystées). *Annales des sciences naturelles. Botanique*, 16 : pp 91-264.
- HENRIKSON, 1994. Earth food Spirulina, How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet. *Ronore Enterprises, Inc., U.S.A.*
- HOCINI M., 2017. Production de la Spiruline en Algérie (*Arthrospira platensis*) : Bilan et perspectives. *Mémoire de master. Université Abderrahmane MIRA-Bejaia* : 42 p.
- HOOFF F. H., 2001. La culture du phytoplancton dans les bassins aquacoles. 226 p.
- JARISOA T., 2005. Adaptation de la spiruline du sud de Madagascar a la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. 188 p.
- JOHSON P. et SHUBERT L., 1986. Availability of iron to rats from Spirulina, a blue-green alga. *Nutr. Res., vol. 6* : pp 85-94.
- JOURDAN J. P., 2013. Cultivez votre spiruline, manuel de culture artisanale. 229 p.
- KIM C.J., et al. 2006. Effet of *Spirulina platensis* and probiotics as feed additives on growth of shrimp Fenner openauschinensis. *Journal of microbiology and biotechnology*.
- LEE J. B., HAYASHI K., TNAKA T., SANKAWA U., 2001. Effects of structural modification of calcium spirulan, a sulfated polysaccharide from *Spirulina platensis*, on antiviral activity. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 49 (1): pp 108-110.
- LUPATINI L. M., COLLA C. CANAN A., 2017. Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source. *Food Agric*, vol. 97, no 3 : pp 724-732.
- MOLLER A.P., 2015. Environmental Indicators of Climate Change: Phenological Aspects in Environmental Indicators. *Ed. Dordrecht: Springer Netherlands* : pp 39-49.

MOULAY L. I., 2011. Culture de la Spiruline en Algérie. *Mémoire de master. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene* : 21 p.

PEARSON J., 2010. Livre turquoise : Algues, filières du future. Colloque algues. *Adebiotech, Romainville* : pp 21-22.

REGUNATHAN C, WESLEY SG, 2006. Pigment deficiency correction in shrimp brood stock using Spirulina as a carotenoid source. *Aquaculture Nutrition*, 12 : pp 425-432.

RICHMOND A., 2001. Handbook of microalgal culture-biotechnology and applied phyecology. *Blackwell science Ltd. Oxford, UK*. 566 : pp 228-230.

RIPKA R., 1988. Recognition and identification of cyanobacteria. Vol. 167. *Ed, Academic Press, London*.

ROGOWSKI J., 2008. « *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. *Université Henri Poincare - Nancy I* : 198 p.

SAGGAI A., 2008. Compatibilité des eaux des nappes de la région de Ouargla pour la culture de spiruline *Arthrospira platensis* (souche de Tamanrasset). *Mémoire de master. Université Kasd Merbah, Ouargla* : 49 p.

THURMAN H. V., 1997. Introductory Oceanography. *New Jersey, USA : Prentice Hall College* : 215 p.

WALSBY A. E., 1973. Gas vacuoles in Fox R. D., 1999. *Ed isud, Aix-en-Provence* : 246 p.

WATANUKI. H, OTA. K, et *al.*, 2006. Immunostimulant effects of dietary *Spirulina platensis* on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 258 : pp 157-163.

WITTROCK et NORDSTEDT, 1844. *Alga aquaeducia exsicc*, fascicule XIV n° 679 de description essystematices dispositae : 59 p.

ZARROUK C., 1966. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la connaissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. *Thèse de doctorat, Paris* : 260 p.

## Webographie

Antenna technologies. Malnutrition: Spiruline données scientifiques 2009. (Page consultée le 10 Octobre 2019). [En ligne]. Adresse URL : <https://www.antenna-france.org/wp-content/uploads/2014/06/spiruline-donneesscientifiques>

FSF, « Fédération des Spiruliniers de France ». (Page consultée le 08/10/2019). [En ligne]. Adresse URL : <http://www.spiruliniersdefrance.fr/>

GUIRY M.D., et GUIRY G.M., 2019. Algaebase. World-Wide electronic publication. *National University of Ireland Galway*. Adresse URL : <http://www.algaebase.org>

Institut national d'études démographiques (INED). (Page consultée le 13/10/2019). [En ligne]. Adresse URL : <https://www.ined.fr/fr/tout-savoir-population/memos-demo/focus/nations-unies-publient-nouvelles-projections-population-mondiale-2019/>

ONU, Perspectives de la population dans le monde. Centre d'actualités de l'ONU. [En ligne] Adresse URL : <http://www.un.org/apps/newsFr/storyF.asp?NewsID=35264#.WQXIJdykLIV>

Spiruline « l'algue bleue au pays ocre ». Culture de la spiruline au Burkina-Faso. (Page consultée le 10/10/2019). [En ligne]. Adresse URL : <http://verteburkina.unblog.fr/la-spiruline-outil-de-sante/>

STARCK S., 2012. A place in the sun. Algae is the future, according to researchers in Geel. (Page consultée le 02/06/2019). [En ligne]. Adresse URL: <http://www.flanderstoday.eu/content/place-sun>

# **Annexes**

### Annexe 1

La spiruline croit naturellement dans les lacs alcalins, dans le désert et à proximité des anciens cratères de volcans contenant du carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ou du bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ), d'autres minéraux et une source d'azote fixée (Fox, 1999).

La répartition naturelle de la spiruline est dépendante de celle du flamant rose nain, *Phoeniconaias minor*. Ce dernier est le seul prédateur de la spiruline, mais c'est aussi lui qui fournit, par l'intermédiaire de ses fientes, les éléments dont elle a besoin pour sa croissance.

Le flamant rose nain a aussi joué dans le passé un rôle de vecteur aérien pour la spiruline, qui a ainsi pu coloniser progressivement de nouveaux habitats.

La spiruline est la principale nourriture du flamant rose nain. Les rebords internes du bec de l'oiseau contiennent de minces lamelles et des plaquettes filtrantes. Quand il bouge sa langue d'arrière en avant, elle agit comme un piston et l'eau est repoussée hors du bec à travers les rebords filtrants. De cette façon, les flamants ne boivent pas d'eau salée et la spiruline est piégée dans le bec. Comme la langue possède de nombreuses barbes épineuses sur sa surface supérieure, elle entraîne, par son action de pompe, la pâte de spiruline dans le long cou vers l'estomac. Le sel inévitablement absorbé avec la spiruline humide est excrété par les reins.

Le flamant se nourrit donc en balayant son bec de part et d'autre de l'eau peu profonde dans laquelle il émet aussi ses déjections. C'est ainsi que se crée un cycle de l'azote : l'oiseau absorbe de l'azote à travers les protéines de la spiruline et il en restitue ensuite une bonne partie, que la spiruline utilise à son tour comme élément nutritif (FOX, 1999)

Les flamants ont pour habitude de voler sur de longues distances pour rechercher de la nourriture, la spiruline accrochée aux écailles de leurs pattes et à leurs plumes, se trouve transportée dans d'autres lacs alcalins où elle a pu proliférer, donc notamment partout où vivent le flamant nain (Afrique et Asie) et le flamant de James, *Phoenicoparrus jamesi* (Amérique du sud) (Lee, 2001).

### Annexe 2

La Spiruline se développe dans la ceinture intertropicale du globe entre la 35° latitude nord et 35° latitude Sud. En effet, elle a besoin de chaleur et de la lumière pour réaliser la photosynthèse. Elle vit dans les eaux saumâtres, milieux très spécifiques riche en sels minéraux composés principalement de bicarbonate ou carbonate de sodium (FOX, 1999).

Cette zone comporte :

**Tableau:** Sites géographiques où se trouve naturellement le genre *Arthrospira* (SCHELDEMAN *et al.*, 1999).

Continent	Pays
Afrique	Tchad, Kenya, Tanzanie (lac Natron), Djibouti, Éthiopie, Congo, Zambie, Algérie, Soudan, et Tunisie.
Europe	France, Corse, Espagne.
Asie	Inde, Thaïlande, Myanmar, Sri Lanka, Pakistan, Chine.
Amérique	Pérou, Mexique, Uruguay, Équateur, Californie, Haïti, République Dominicaine).

### Annexe 3

**Tableau :** Composition minérale de la spiruline (Fox, 1999)

Eléments	% du poids sec
Carbone	47
Azote	12
Phosphore	0,8
Fer	0,05
Soufre	2
Potassium	1,5
Calcium	0,13
Chlore	0,4
Magnésium	0,2

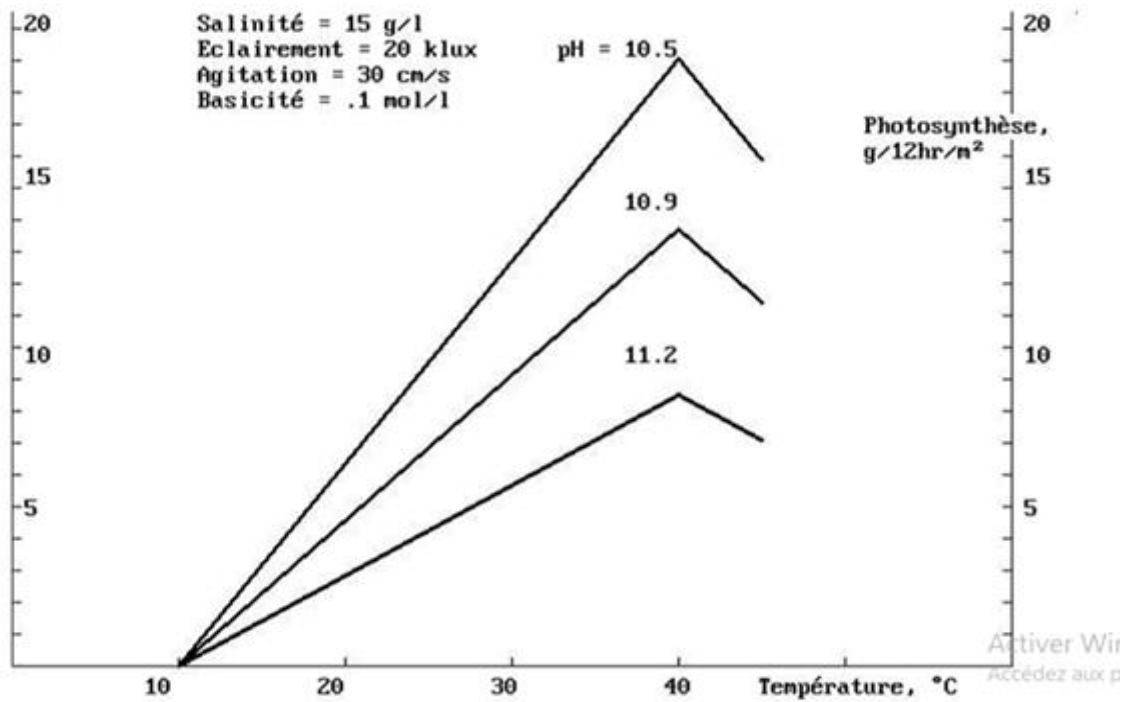
**Annexe 4**

Limites de concentrations admissibles pour les différents éléments dans le milieu de culture (JOURDAN, 2013).

Les concentrations sont exprimées en mg/litre (ou ppm).

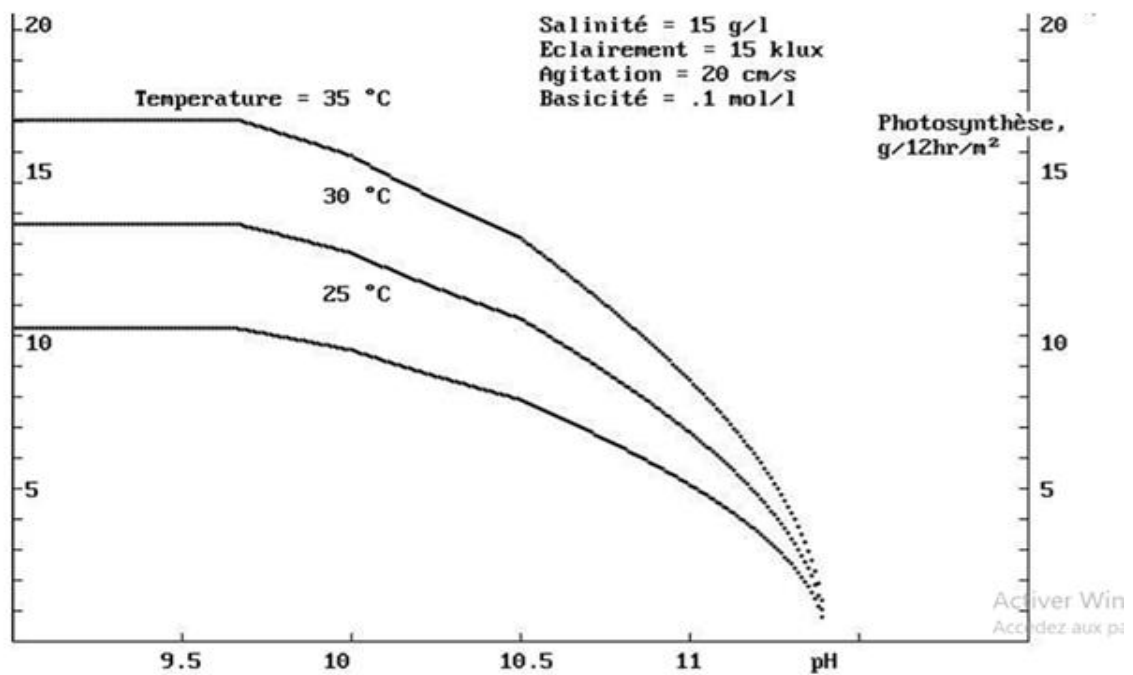
<b>Eléments</b>	<b>Concentrations</b>
Nitrates	440 à 6600
Ammonium	0,3 à 30
Urée	< 50
Phosphates	0,1 à 300
Potassium	> 10
Magnésium	1 à 30
Sulfate	> 30
Fer	> 0,4
Calcium	> 0,6
Bore	0,5
Manganèse	0,5
Zinc	< 1
Cuivre	< 0,001
Molybdène	0,01
Chrome	0,01
Nickel	0,01
Cobalt	0,01

## Annexe 5



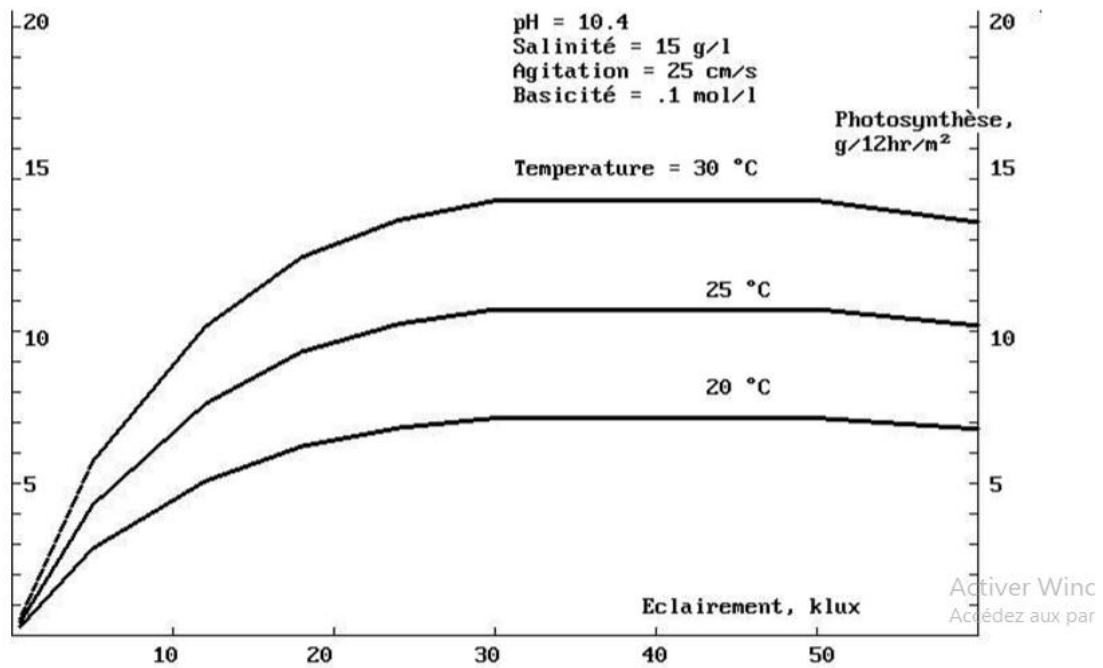
**Figure :** Vitesse photosynthèse de la spiruline en fonction de la température  
(ZARROUK, 1966)

## Annexe 6



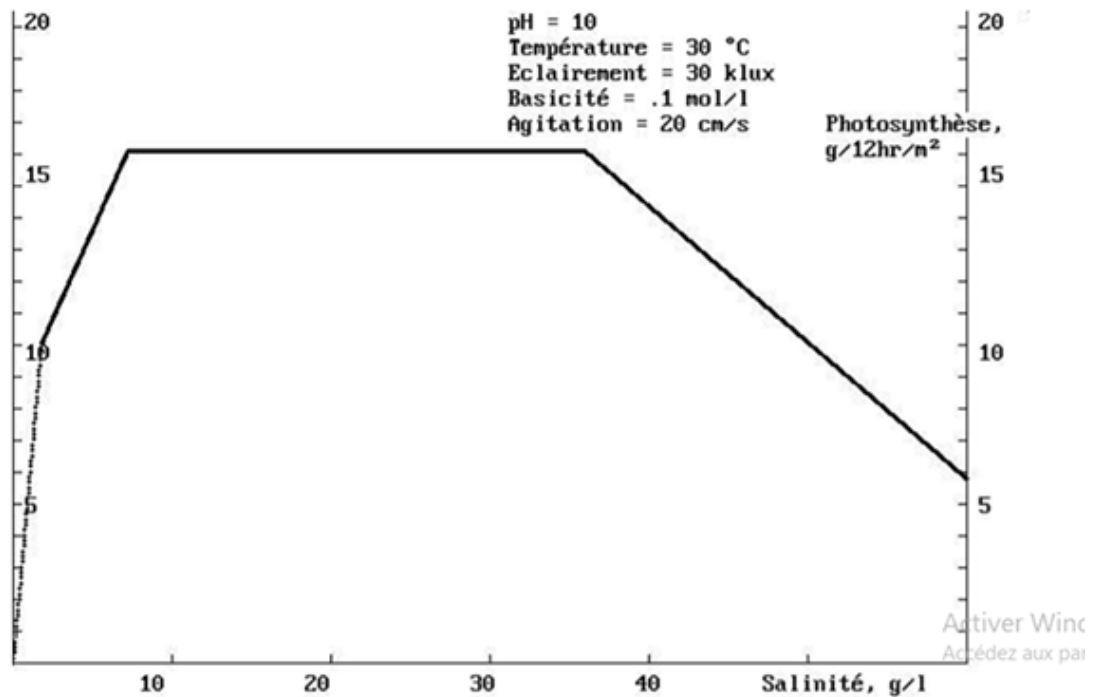
**Figure :** Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction du pH (ZARROUK, 1966)

## Annexe 7



**Figure :** Vitesse photosynthèse de la spiruline en fonction de l'éclairement  
(ZARROUK, 1966)

## Annexe 8



**Figure :** Vitesse de photosynthèse de la spiruline en fonction de la salinité du milieu  
(ZARROUK, 1966)

## Annexe 9

Composition approximative de la spiruline en éléments nutritionnels :

<b>Composant</b>	<b>(%) en poids</b>
Protéines	65
Glucides	15
Minéraux	7
Lipides	6
Fibres	2
Eau	5
Contenu énergétique	5000

**Tableau** : Composition de la spiruline en protéines

<b>Acides aminés</b>	<b>Concentration (g/kg)</b>
Alanine	6
Arginine	91
Aspartique	32
Cystine	10
Glutamique	35
Glycine	54
Histidine	29
Isoleucine	14
Leucine	28
Lysine	27
Tyrosine	32
Phénylalanine	32
Proline	9
Sérine	30
Thréonine	40
Tryptophane	47
Valine	61

**Tableau** : Composition de la spiruline en lipides

<b>Acides</b>	<b>Concentration (g/kg)</b>
Linoléique	8
Gamma-linolénique (AGL ou GLA)	10
Alpha-linolénique (ALA)	0

Il ne doit pas y avoir d'acide alpha-linolénique (ALA) : s'il y en a c'est que la spiruline est contaminée par une autre cyanobactérie.

**Tableau** : Composition de la spiruline en vitamines

<b>Vitamines</b>	<b>Concentration (mg/kg)</b>
Béta-carotène	1400
E (Tocophérol)	100
B1 (Thiamine)	35
B2 (Riboflavine)	40
B3 ou PP (Niacine)	140
B8 ou H (Biotine)	1
B12 (Cobalamine)	5
B5 (Acide pantothénique)	3,2
Inositol	640
K (Phylloquinone)	20

**Tableau** : Composition de la spiruline en pigments

<b>Pigments</b>	<b>Concentration (g/kg)</b>
Phycocyanine	150
Chlorophylle a	11
Caroténoïdes	3,7 (dont bêta-carotène = 1,4)

**Tableau** : Composition de spiruline en minéraux

<b>Composant</b>	<b>Concentration (mg/kg)</b>
Chrome	3
Calcium	10000
Cuivre	12
Fer	1500
Magnésium	3000
Manganèse	30
Phosphore	8000
Potassium	14000
Sodium	4000
Zinc	30

**Annexe 10**

La spiruline sécrète un exopolysaccharide sulfaté (EPS). L'EPS à bas poids moléculaire est peu à peu relâché dans le milieu de culture où il se dissout d'abord puis polymérisé progressivement en micelles de plus en plus grosses, puis en peaux ou grumeaux jaune-bruns de taille variable, microscopiques (visibles au microscope après coloration du milieu à l'encre de Chine, l'EPS ne se colorant pas) ou même visibles à l'œil nu; quand le milieu se concentre en EPS, sa solubilité diminue et une gaine d'EPS se forme à la surface externe des spirulines.

La production normale d'EPS à bas pH et sous forte lumière est de l'ordre de 30% de celle de la spiruline, mais il semble se former encore de l'EPS à des pH très élevés ; s'il y a carence d'azote, la photosynthèse produit exclusivement de l'EPS (**CORNET, 1992**).

Il est évident qu'une production forte d'EPS est gênante, non seulement parce que c'est une perte de rendement, mais parce qu'elle salit le milieu de culture et conduit à des difficultés de récolte.

Les peaux d'EPS peuvent être confondues avec des amas d'algues étrangères comme la microcystis très toxiques, d'où nécessité de faire des tests de toxicité en cas de doute, bien que nous n'ayons jamais vu de cas de toxicité avérée.

## Annexe 11

Le milieu de culture Zarrouk contient tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'*Arthrospira platensis* à des concentrations bien supérieures aux besoins de l'algue (ZARROUK, 1966).

**Tableau** : Composition du milieu de culture ZARROUK (g/l)

Composants	Quantité
NaHCO <sub>3</sub> (Hydrogénocarbonate de sodium)	16,8
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Phosphate dipotassique)	0,5
NaNO <sub>3</sub> (Nitrate de sodium)	2,5
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Sulfate de potassium)	1
NaCl(Chlorure de sodium)	1
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O(Sulfate de magnésium, cristallin)	0,2
CaCl <sub>2</sub> (Chlorure de calcium)	0,04
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O (Sulfate ferreux, cristallin)	0,01
EDTA(Acide éthylène diaminotétracétique)	0,08
Solutions A5	1
Solution B6	1

**Tableau** : Composition de la solution A5 en (g/l)

Composants	Quantité
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86
MnCl <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O	1,81
H <sub>2</sub> OZnSO <sub>4</sub> ,	0,222
CuSO <sub>4</sub> , 5H <sub>2</sub> O	0,079
MoO <sub>3</sub>	0,015

**Tableau** : Composition de la solution B6(g/l)

Composants	Quantité (g/l)
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0,02296
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> , 24 H <sub>2</sub> O	0,096
NiSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O	0,04785
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> , 2 H <sub>2</sub> O	0,01794
Ti <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0,04
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	0,04398

## Annexe 12

Le comptage ou numération cellulaire d'un milieu liquide consiste à déterminer le nombre de cellules contenu dans ce milieu. Le comptage se fait à partir d'un échantillon (volume précis). Puis le nombre obtenu est extrapolé au volume total pour estimer la concentration.

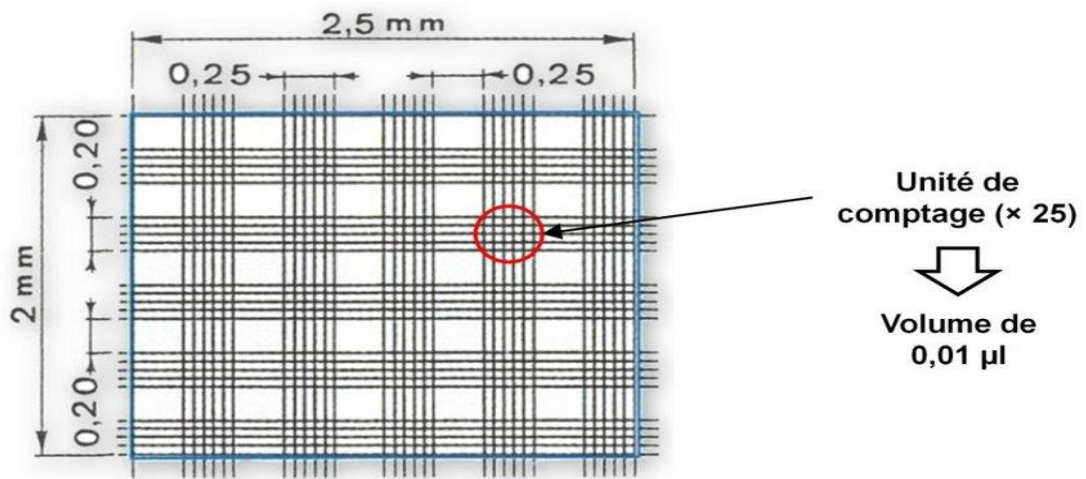
Les cellules de numération de Malassez, Nageotte ou Neubauer sont les plus utilisées en raison de leur grand volume. Plusieurs comptages sont effectués sur différentes lames, la moyenne et l'écart-type sont ensuite calculés pour déterminer la concentration en biomasse. Cette technique nécessite d'avoir des échantillons bien homogénéisés et dilués.

La cellule Malassez a été inventée par Louis-Charles-Malassez, c'est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution. Il s'agit d'une lame en verre sur laquelle un quadrillage de 100 rectangles est gravé dont 25 contenant 20 petits carrés.

Volume du quadrillage total : 1  $\mu$ l

Dimension d'une bande :

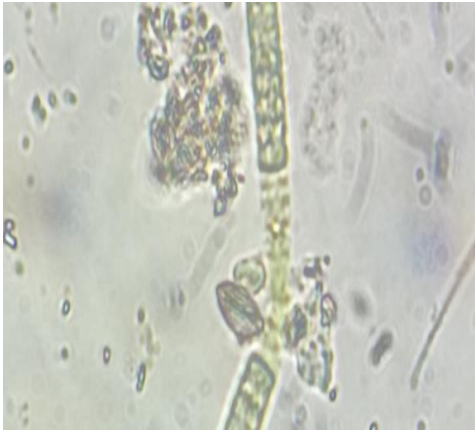
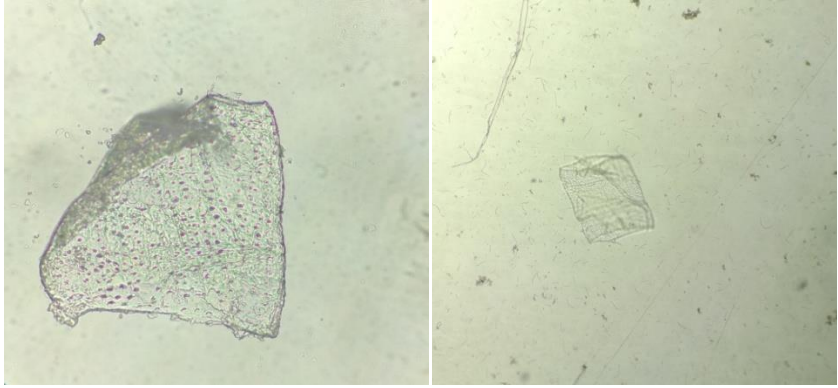
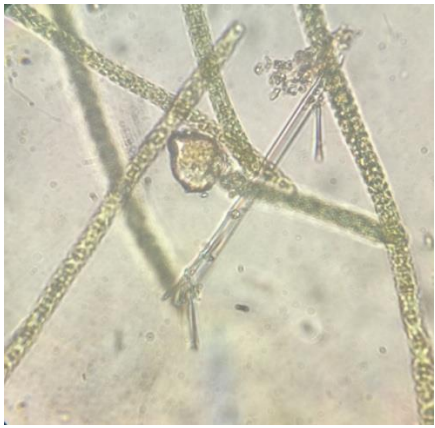
- **Longueur** : 2,5 mm
- **Largeur** : 2 mm
- **Hauteur** (ou profondeur) : 0,20mm



**Figure :** Schéma de la zone de comptage d'une cellule Malassez

Annexe 13

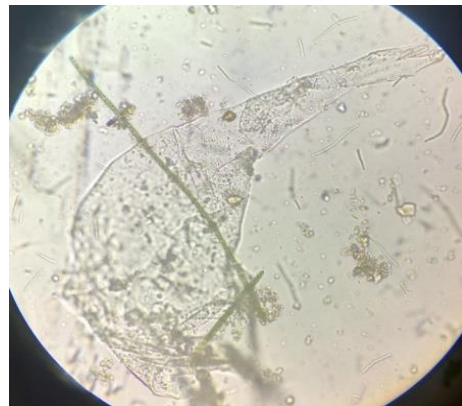
Tableau: Hypothèses d'identification de contaminants

Hypothèses	Photos
Diatomée naviculas	 A microscopic image showing a long, narrow, boat-shaped diatom with a central longitudinal groove and numerous small, dark, granular structures along its length. The diatom is surrounded by other smaller, less distinct organisms in a light-colored medium.
Diatomée centrale	 Two side-by-side microscopic images of central diatoms. The left image shows a large, roughly rectangular, textured structure with a dense, granular surface. The right image shows a smaller, more square-shaped structure with a distinct, grid-like or lattice-like pattern on its surface.
Prorocentrum	 A microscopic image of a Prorocentrum diatom, showing a long, cylindrical, segmented structure with a distinct, repeating pattern of small, dark, granular structures along its length. The diatom is surrounded by other smaller, less distinct organisms in a light-colored medium.

**Appendiculaire**



**Copépode**



D'autres observations microscopiques d'une microflore non identifiée responsables de la dégradation de l'état de la culture de spiruline ont été photographiées.



**Figure:** Microflore non identifiée

## Résumé

Le manque et la dégradation des terres arables avec la pénurie d'eau à cause de la pression anthropique sont des problèmes majeurs de la production agricole. La culture des microalgues telle que la spiruline ou *Arthrospira platensis* se présente comme étant une solution d'avenir, cela est justifié d'une part par la facilité de sa culture, sa durée de production courte, sa haute valeur nutritive, ses bienfaits thérapeutiques; et d'autre part par sa production respectueuse de l'environnement (réduction des surfaces de culture, consommation réduite en eau et énergies, absence de pesticides et engrais, etc.).

La spiruline, une cyanobactérie, est une algue bleue. Elle est considérée comme une source alimentaire de haute qualité nutritive, en raison notamment de sa haute digestibilité, sa teneur élevée en protéines (70%) et particulièrement en phycocyanine et sa richesse en vitamines et en acides gras insaturés.

À travers notre travail, nous avons essayé de reproduire les conditions naturelles optimales nécessaires à la croissance de la spiruline pour pouvoir la cultiver. La souche utilisée dans cette expérimentation est la spiruline FOXBEHATAM (*Htam spp.*) qui prolifère d'une manière optimale dans le sud Algérien dans le massif cristallin du Hoggar à Tamanrasset.

Les résultats obtenus démontrent que la température et le pH sont des facteurs limitant pour la bonne croissance et le développement de la spiruline dans un milieu contrôlé ajouté à cela la principale préoccupation qui pourrait altérer la sécurité de l'utilisation de la spiruline : le risque de contamination par d'autres microalgues ou par des larves et des insectes.

Mots clés : Spiruline, *Arthrospira platensis*, culture de spiruline.

## الملخص

يعتبر نقص وتدهور الأراضي الصالحة للزراعة إلى جانب ندرة المياه بسبب الضغط البشري من المشاكل الرئيسية في الإنتاج الزراعي. تقدم استزراع الطحالب الدقيقة مثل سبيرولينا أو آرثروسبيريرا بلاتنسيس نفسها كحل للمستقبل ، وهذا ما يبرره من ناحية ناحية بسهولة عملية الاستزراع، الإنتاج القصير المدة، وقيمتها الغذائية العالية ، وفوائدها العلاجية ؛ ومن ناحية أخرى من خلال إنتاجها الصديق للبيئة (تقليل مساحات الزراعة ، تقليل استهلاك المياه والطاقة ، عدم وجود مبيدات الآفات والأسمدة ، إلخ).

سبيرولينا هي طحالب زرقاء. يعتبر مصدر غذاء ذو جودة غذائية عالية ، لا سيما بسبب قابلية هضمه العالية ومحتواه العالي من البروتين (70%) وخاصة الفيكوسيانين وغناه بالفيتامينات والأحماض الدهنية غير المشبعة.

من خلال عملنا ، حاولنا إعادة إنتاج الظروف الطبيعية المثلى اللازمة لنمو السبيرولينا لتكون قادرة على زراعتها. السلالة المستخدمة في هذه التجربة هي FOXBEHATAM (*Htam spp*) والتي تتكاثر في جنوب الجزائر في الكتلة البلورية من هفار في تمراست.

توضح النتائج التي تم الحصول عليها أن درجة الحرارة ودرجة الحموضة هي عوامل تحد من النمو الجيد وتطور السبيرولينا في بيئة خاضعة للرقابة ، إضافة إلى ذلك الشاغل الرئيسي الذي يمكن أن يؤثر على سلامة استخدام السبيرولينا: خطر التلوث بالطحالب الدقيقة الأخرى أو عن طريق اليرقات والحشرات.

الكلمات المفتاحية : سبيرولينا ، أرثروسيرا بلاتنيس ، استزراع سبيرولينا.

## Abstract

Lack and degradation of arable land along with water scarcity due to anthropogenic pressure are major problems in agricultural production. The culture of microalgae such as spirulina or *Arthrospira platensis* presents itself as a solution for the future, this is justified on the one hand by the ease of its culture, its short production time, its high nutritional value, its therapeutic benefits; and on the other hand by its environmentally friendly production (reduction of cultivation areas, reduced consumption of water and energy, absence of pesticides and fertilizers, etc.).

Spirulina, a cyanobacterium, is a blue algae. It is considered a food source of high nutritional quality, particularly because of its high digestibility, its high protein content (70%) and particularly phycocyanin and its richness in vitamins and unsaturated fatty acids.

Through our work, we have tried to reproduce the optimal natural conditions necessary for the growth of spirulina to be able to cultivate it. The strain used in this experiment is FOXBEHATAM spirulina (*Htam spp.*) Which proliferates optimally in southern Algeria in the crystalline massif of Hoggar in Tamanrasset.

The results obtained demonstrate that the temperature and the pH are limiting factors for the good growth and development of spirulina in a controlled environment, added to this the main concern that could affect the safety of the use of spirulina: the risk of contamination by other microalgae or by larvae and insects.

Keywords: Spirulina, *Arthrospira platensis*, spirulina culture.