



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE**

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : MARKEMAL Nasreddine Lamine

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE

Thème

La production de la SPIRULINE

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Mr OUBRAHAM.F	MAA	Président
Mlle ZAZA.M	MAA	Examinatrice
Mr BENHASSINE Med Lamine	MAA	Rapporteur

Promotion : 2017 / 2018

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes parents... Pour leur confiance, leur amour, leur présence et leur soutien dans les épreuves
que la vie nous a réservées,*

Mes frères et sœurs:

Ali, Samira, Nour Elhouda, Lazhari, Djihane, Mohammed,

Toute ma famille, et mes amis,

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis
merci.*

Markemal Nasreddine Lamine

Remerciements

Je tiens à exprimer ma gratitude à M. BENHASSINE Mohamed, pour avoir accepté de diriger ce mémoire tout en ayant l'obligeance de consacrer de son temps précieux pour donner des conseils très utiles qui m'ont permis d'enrichir et de mener à bien ce travail.

Mes remerciements vont également aux membres du jury, pour avoir acceptés de juger mon travail.

Je remercie "Le chef de département" M. BENCHATTOUH Ahmed et "Vice chef de département" Mme MARFOUAA.

Je remercie les secrétaires de département et les ingénieurs de laboratoire de la faculté d'agronomie.

Finalement, je remercie toutes celles et tous ceux qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Dédicaces	II
Remerciements	III
Sommaire	IV
Introduction générale.....	1
Première partie: Partie bibliographique.....	2
Chapitre I: Généralités sur la spiruline.....	3
I.1. Présentation de la spiruline.....	4
I.2. Historique	4
I.3. Distribution géographique dans le monde	5
I.4. Appellation	6
I.5. Taxonomie.....	7
I.6. Morphologie et caractères généraux.....	7
I.7. Reproduction	9
I.8. Cycle biologique.....	9
I.9. Toxicité.....	10
I.9.1. Toxiques minéraux.....	10
I.9.2. Toxiques organiques	11
I.9.3. Cyanotoxines.....	11
I.9.4. Résidus de pesticides.....	11
I.9.5. Réactions allergiques	11
I.9.6. Risques de surdoses	12
Chapitre II: Composition biochimique de la spiruline	13
II.1. Protéines	14
II.2. Lipides.....	14
II.2.1. Lipides totaux	14
II.2.2. Acides gras.....	14
II.3. Glucides.....	15
II.4. Acides nucléiques.....	15
II.5. Vitamines	15
II.5.1. Bêta-carotène (provitamine A)	15
II.5.2. Tocophérols (vitamine E)	15
II.5.3. Vitamines du groupe B	15
II.5.4. Vitamine B12.....	16
II.6. Minéraux et oligo-éléments.....	16
II.7. Pigments	17
II.7.1. La phycocyanine	17
Chapitre III: conditions de culture	18
III.1. Bases techniques de la production	19

III.2. Milieu de culture	19
III.3. Facteurs essentiels de la culture	19
III.3.1. Température.....	19
III.3.2. Lumière	20
III.3.3. agitation	20
III.3.4. Salinité.....	20
III.3.5. pH	21
III.4. Nourriture minérale de la spiruline	21
III.5. Ensemencement	21
III.5.1. choix de la souche	21
III.5.2. Mesure de la concentration d'une culture de spiruline.....	21
III.6. Récolte	22
III.7. Séchage	22
III.8. conditionnement.....	22
III.9. Suivi de la culture	22
III.9.1. Couleur	22
III.9.2. Renouvellement du milieu de culture.....	23
III.9.3. Anomalies.....	23
III.9.4. contamination de la culture	24
III.9.5. Empoisonnement chimique de la spiruline	24
III.9.6. Maladies	24
Chapitre IV: Production de la spiruline.....	25
IV.1. Cultures artisanales.....	26
IV.1.1. Facteurs climatiques.....	26
IV.1.2. Facteurs concernant les bassins de culture.....	26
IV.1.3. Milieu de culture	27
IV.1.4. Récolte.....	27
IV.1.4.1. Filtration	27
IV.1.4.2. Lavage et Essorage (pressage).....	27
IV.1.4.3. Extrusion et Séchage.....	28
IV.1.4.4. Broyage.....	29
IV.1.4.5. Conditionnement	30
IV.2. Cultures industrielles	30
IV.3. Production mondiale et régionale	30
Chapitre V: Intérêts alimentaires, thérapeutiques, et biotechnologiques	32
V.1. Aspects alimentaires	33
V.2. Aspects thérapeutiques.....	33
V.3. Aspects toxicologiques	34
V.4. Aspects biotechnologiques.....	34
Deuxième partie: Matériels et méthodes	35
1. Souche.....	36
2. Matériel utilisé	36
2.1. Matériel biologique et chimique.....	36
2.2. Matériel de laboratoire	36

3. Dispositif expérimental :.....	36
3.1. Milieu de culture	37
3.2. Ensemencement.....	37
3.3. Conditions de culture.....	37
3.3.1. Agitation.....	38
3.3.2. Eclairage	38
4. Evolution du développement algal	38
4.1. Evolution des paramètres physico-chimiques	38
4.2. Etude de caractérisation de la Spiruline	38
5. Récolte	39
Troisième partie : Résultats et discussion	40
1. Etudes de la culture	41
1.1. Evolution des paramètres physico-chimiques	41
1.1.1. Température	42
1.1.2. pH.....	43
1.2. Caractérisations de la spiruline.....	44
1.2.1. Etude morphologique	44
1.2.2. Etude de la croissance de la Spiruline et changement de couleur	45
1.3. Evolution des paramètres biométrique	46
1.3.1. Evolution de la biomasse	46
2. Récolte	47
Conclusion generale	48
Liste des figures	49
Liste des tableaux	50
Références bibliographiques	51

Introduction générale

Les algues regroupent un ensemble d'organismes très varié, toutes possèdent de la chlorophylle, et en ce sens ce sont des végétaux. Elles vivent en milieux aquatiques ou dans des lieux humides. On trouve des organismes plus évolués, des eucaryotes uni ou pluricellulaires ainsi que des bactéries appelées algues bleues ou cyanobactéries (Jean *et al.*, 2010).

Parmi les ressources alimentaires non conventionnelles a été adoptée une algue bleue qui offre jusqu'à 70 % de protéines, de sels minéraux, des oligo-aliments et de nombreuses vitamines. Cette algue : c'est la SPIRULINE.

L'impressionnante teneur en protéines de la spiruline a attiré l'attention aussi bien des chercheurs que les industriels. Par la suite, nombre de propriétés particulièrement intéressantes sur le plan nutritionnel sont apparues : composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, ainsi que de nombreux minéraux et vitamines.

Outre son intérêt nutritionnel, la spiruline présente des propriétés thérapeutiques. Elle renferme plusieurs molécules ayant fait l'objet d'études pour leurs activités biologiques (Sirnoval, 1993).

Les propriétés nutritionnelles de la spiruline en font une source alimentaire qui mérite une attention particulière dans nos pays en développement où se pose avec acuité un problème de disponibilités alimentaires.

Des recherches sont effectuées principalement en Asie et sur le continent américain, sur les propriétés des molécules présentes dans la Spiruline. la Spiruline pourrait avoir dans le traitement de maladies virales et infectieuses

Ces caractéristiques exceptionnelles ont attiré notre attention pour réaliser une étude sur la Spiruline,

Lorsque la spiruline est cultivée dans un climat différent de son climat préféré, peut-elle croître d'une manière normale ?

L'objectif de cette présente étude est de d'essayé de cultiver au laboratoire et observer le comportement de la spiruline dans un climat différent de son climat préférentiel.

Première partie

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur la spiruline

I.1. Présentation de la spiruline

La Spiruline est un micro-organisme appartenant au groupe des cyanobactéries (groupe comprend l'ensemble des bactéries autotrophes, c'est-à-dire capables d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse (Roger, 2006)). Contrairement aux algues et aux plantes également dotées de ce pouvoir photosynthétique, elle appartient à l'embranchement des procaryotes, car elle n'a pas de noyau bien individualisé. Elle a été longtemps classée parmi les «algues bleu-vert», pour ces raisons:

- Sa morphologie proche de celle des algues;
- Sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle).

I.2. Historique

Avant l'arrivée des colons espagnols, les Aztèques étaient le peuple originel du Mexique. Malgré de faibles ressources agraires, leur aliment principal étant le maïs, ce peuple réussit à survivre pendant des siècles. Farrar en 1966 s'est interrogé sur les moyens qui ont permis à cette population de survivre. Le poisson et les oiseaux du lac Texcoco fournissent un apport protéique pas assez suffisant pour combler leurs besoins. Il suggéra que la source complémentaire de protéines émanait d'une ressource qui provenait du lac, appelée Tecuitlatl (Paniagua-michel et al. 1993).

De nombreux ouvrages de l'époque coloniale espagnole citaient déjà une certaine substance bleu-vert que les Aztèques utilisaient. Le tecuitlatl est une sorte de purée considérée par les colons comme minéral, une terre, un limon, consommée par les paysans après avoir été séchée et broyée. En réalité le tecuitlatl est un gâteau de spirulines, extrêmement riches en protéines, appartenant à l'espèce *Spirulina maxima* (Paniagua-michel et al. 1993). L'algue ne fut vraiment redécouverte que quelques 450 ans après par le botaniste belge Léonard lors d'une expédition belgo-française basée au Tchad (1964 - 1965), bien que déjà décrite par Wittrock et Nordstedt en 1844 (Fox. 1999).

Léonard en 1968 a en effet constaté que les Kanembous (population d'Afrique centrale et occidentale vivant principalement à l'ouest du Tchad, dans la région du Kanem, sur la rive nord du lac Tchad) écumaient la surface des mares riches en carbonates de sodium, à la recherche de la fameuse algue abondante sur ce lac et la récoltée sous forme d'une purée bleu-vert. Cette purée était ensuite utilisée dans la préparation des galettes appelées «dihé» (Girardin et Andréani, 2005). Compère et Leonard en 1968 constatèrent, en étudiant des échantillons qu'avait ramenés Léonard de son expédition, qu'en effet les galettes contenaient essentiellement l'algue bleue *Spirulina platensis*.

Peu après, l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline. Ces chercheurs ont isolé des souches de spirulines, ils les ont purifiées, puis cultivées et en fin analysées. L'analyse a prouvé que les spirulines, qui en constituent la masse essentielle du «dihé», ont un contenu fabuleux: 50 à 60 % de protéines de bonne qualité alimentaire, 6 % de graisses et 15 à 20 % de sucres, ajouté à cela une multitude de vitamine et une série d'autres

molécules rares, fort utiles à une nutrition saine et complète. La valeur alimentaire des spirulines a été clairement établie dès 1976. (Delpeuch et al. 1975; Sautier et Trémolières, 1976).

I.3. Distribution géographique dans le monde

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (Castenholz et al., 2001). Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. Figure 1.

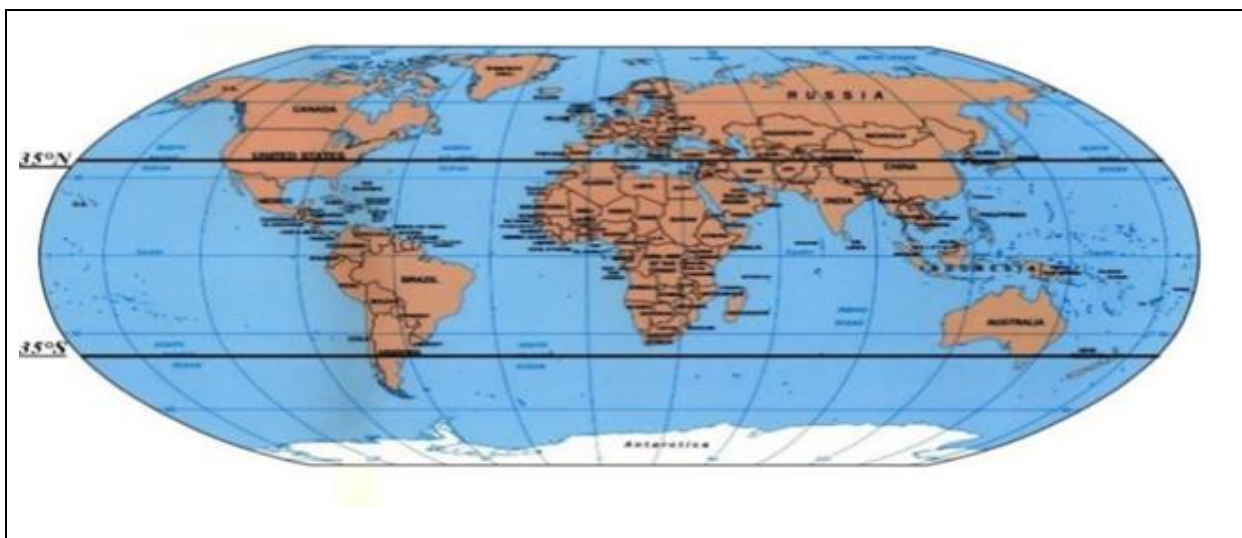


Figure 1: Zone de croissance naturelle de la Spiruline dans le monde (Fox, 1999).

Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande) (Tableau 1).

Tableau 1: Sites géographique où pousse naturellement la spiruline (Fox, 1999).

Noms des pays	Localisation précises
AFRIQUE	
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Bodou
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Nakourou, Chiltu, Navasha
Congo	Mougounga
Tunisie	Lac Tunis, Chott el Jerid
ASIE	
Inde	Lacs Lonar et Nagpur, Lacs Twyn Ttaung
Thaïlande	Mares près de Lahore
Sri Lanka	Lac Beira
AMERIQUE DU SUD	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Près de l'île d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lacs Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac Quiliotoa : cratère de 1 Km de diamètre
AMERIQUE DU NORD	
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
Europe	
Hongrie	
France	Camargue

I.4. Appellation

Spiruline, Spirulina ou Arthrospira. Il faut retenir que le terme "Spiruline" correspond au nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre Arthrospira. "Spirulina" est le nom commercial anglais de la même cyanobactérie mais il désigne également un genre de cyanobactéries assez d'Arthrospira, et surtout non comestible. «Arthrospira» étant le nom scientifique (genre) d'un groupe de cyanobactéries auquel appartient notre spiruline alimentaire (Fox, 1999 ; Legard, 2005). La spiruline, avait différents appellations dont on peut citer (Fox, 1999):

- La Potion magique: Mentionnée par Christophe Colomb;
- Le Dihé: Par les Kanembous, tribu du Tchad (Donon, 1998);
- Le Tecuitlatl: Par les Aztèques.

I.5. Taxonomie

En 1960 une claire distinction entre procaryote et eucaryote a été définie, basée sur la différence d'organisation cellulaire : les procaryotes regroupent les organismes dépourvus de compartiment cellulaire tandis que les eucaryotes regroupent ceux qui possèdent des organelles c'est à dire des nucléoles et des mitochondries (Durand Chastel,1993). En 1962, Stanier et al (Stanier, 1974 ; Stanier et Van Niel C.B., 1962) constataient que cette algue bleue-verte était dépourvue de compartiments cellulaires, et donc faisait partie des procaryotes ; ils proposaient de désigner ce microorganisme «Cyanobactérie». on la classe selon Ripley Fox (1999) dans:

Règne Monera

Sous règne Prokaryota **Phylum** Cyanobacteria

Classe Cyanophyceae

Ordre Nostocales

Famille Oscillatoriceae

Genre *Arthrospira*

Espèce *Arthrospira platensis*

I.6. Morphologie et caractères généraux

La spiruline a une longueur moyenne de 250 μm quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12 μm de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline». Cependant les spirulines présentent différentes formes. On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites (Figure 2). Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (Geitler, 1932 ; Charpy et al., 2008).



A

B

C

A = Forme spiralée (*Arthrospira fusiformis*) ; B = Forme ondulée (*Spirulina maxima*) ; C = forme Spiralé (*Arthrospira platensis*).

Figure 2: Morphologies typiques de la spiruline (Charpy et al., 2008).

Actuellement, 50 souches d'*Arthrospira* recensées à travers le monde ont été étudiées pour en décrire la diversité génétique. Celui-ci repose sur le séquençage génétique d'un fragment d'ADN hypervariable, mais spécifique des cyanobactéries. Il en ressort une très forte homogénéité du genre *Arthrospira*, même lorsque les souches ont des morphologies variées ou lorsqu'elles proviennent de lieux géographiques très différents. Leur conclusion est qu'il n'existerait a priori que deux espèces génétiquement différentes parmi ces souches (Antenna T, 2007): *Arthrospira platensis*, initialement originaire du Kanem (Tchad) et *Arthrospira geitieri* ou *maxima*, originaire du Mexique. (Cruchot H, 2008).

Spirulina platensis est la plus connue et la plus utilisée lors des travaux de recherche ou lors de l'ensemencement de nouvelles cultures. Elle se compose de trichomes atteignant 350 µm de long et entre 6 et 12,45 µm de diamètre ; ils sont un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50 µm diminuant légèrement vers les extrémités. (Scheldeman P, 2005).

Spirulina maxima se caractérise par des trichomes de 70 à 80 µm de long, de 7 à 9 µm de diamètre et légèrement effilés aux extrémités ; ils forment une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 µm de diamètre. Les cellules constituant les trichomes mesurent entre 5 à 7 µm de long et ne rétrécissent pas au niveau des articulations. (Scheldeman P, 2005).

En ce qui concerne les différentes souches d'*Arthrospira platensis*, on distingue les souches "spirales", "ondulées", et "droites":

- Les souches "spirales", désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "lonar" (inde) et "Toliara".
- Les souches "ondulées", le terme "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "paracas" (Pérou).
- Les souches "droites", le terme "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes, telle la "m2".

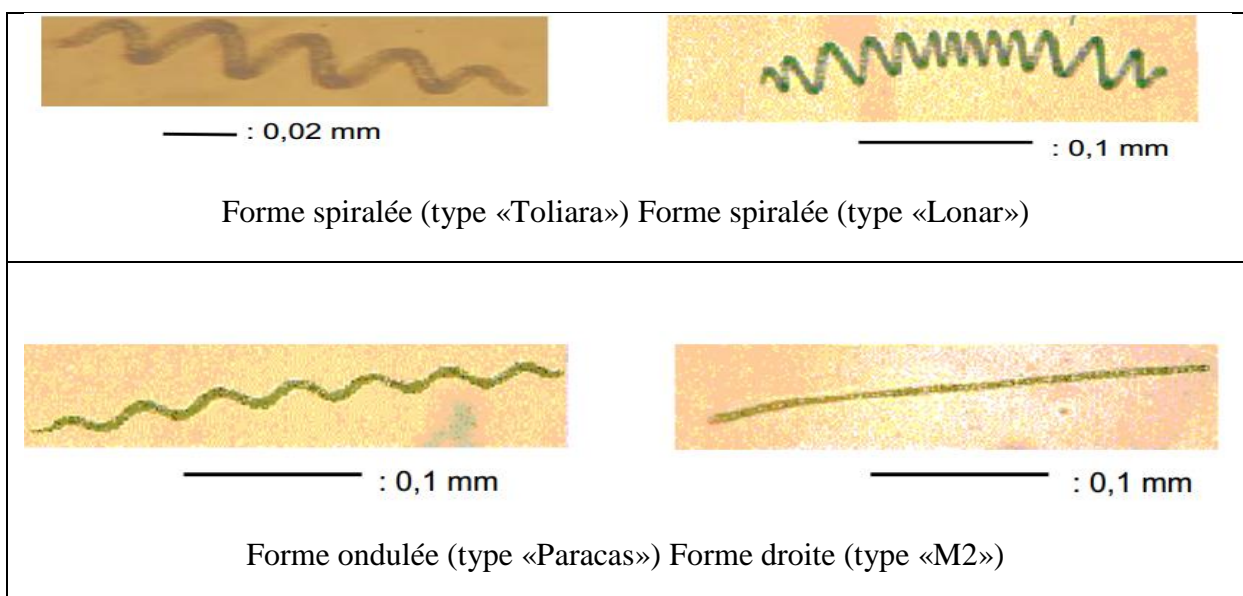


Figure 3: Morphologies typiques de la spiruline (Source: Antenna Technologie modifiée).

Plus précisément, la spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice. Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis (Muhling et al., 2003). Les filaments d'Arthrospira sont motiles, se déplaçant souvent par des mouvements en vrilles à plus de 5µm par seconde, sa motilité lui sert à se protéger des expositions trop fortes au soleil (Fox, 1999).

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

I.7. Reproduction

Son mode de reproduction est la bipartition par scission simple. C'est une reproduction asexuée, par segmentation des filaments ; ce processus ne doit pas être confondu avec la mitose, laquelle n'existe que chez les eucaryotes (König, 2007). Sa vitesse de multiplication est particulièrement rapide dès que la température dépasse 30°C à l'ombre ; lorsque ces conditions sont réunies et que le milieu est favorable, le temps de régénération est très court (7 heures). (Zarrouk, 1966 in Jourdan, 2006). Les filaments microscopiques se développent simultanément et ils constituent des "fleurs d'eau" également appelés "blooms". (Mitchell GV, 1990).

I.8. Cycle biologique

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées Nécriides. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies. Les Hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale (Balloni et al. 1980 in Charpy, 2008) (figure 4).

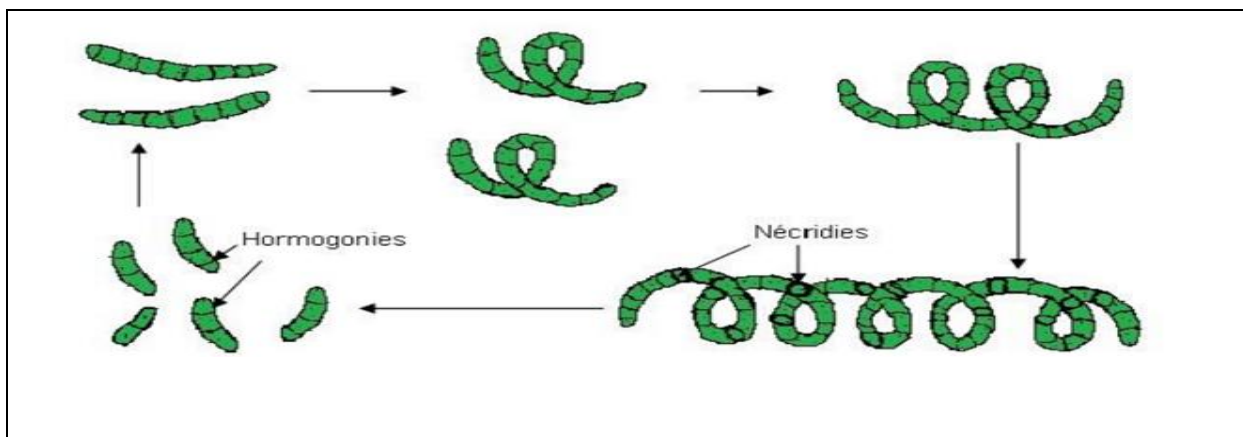


Figure 4: Cycle biologique de la Spiruline selon (Balloni et al. 1980 in Charpy, 2008).

I.9. Toxicité

Avec des décennies de recul concernant la consommation de spiruline par certaines populations, et, à l'issue des nombreuses études menées par des chercheurs spécialisés dans le domaine des cyanobactéries, il ressort que la spiruline (genre *Arthrospira*) n'est pas toxique, contrairement à la plupart des autres cyanobactéries (Delpuech F, 1976) (Chamorro-Cevallos G, 1980). Ces dernières produisent en effet un grand nombre de métabolites bioactifs, parmi lesquels des toxines: neurotoxines (anatoxine-A, -N-méthylamino-L-alanine), hépatotoxines (microcystine) ou hématoxines, responsables de cas d'empoisonnements humain ou animal. (Boudène C, 1975). Mais, le genre *Arthrospira* ne possédant pas les gènes assurant la synthèse de ces toxines, la spiruline destinée à l'alimentation humaine a été autorisée à la vente depuis de nombreuses années dans les pays industrialisés. Aux Etats-Unis, la spiruline est classée "GRAS" (Generally Recognized As Safe) par la Food and Drug Administration (FDA). En France, le Comité Supérieur d'Hygiène Publique a donné, en 1984, un avis favorable pour la consommation humaine de toutes les spirulines. (Doumenge F et al, 1993).

I.9.1. Toxiques minéraux

Dans plusieurs cas, les toxiques tels que le plomb, le mercure et l'arsenic ainsi que le fluor (Santillan, 1974) ont été donnés comme non détectables; pourtant, une étude plus détaillée montre que dans le cas de spiruline récoltée en milieu naturel, les teneurs en arsenic et surtout en fluorures peuvent être relativement élevées (Tableau 2). Ces particularités proviennent certainement des compositions géologiques des régions concernées (Boudène, 1975). Ces problèmes de toxicité semblent inexistantes pour la spiruline cultivée en milieu artificiel puisque les valeurs observées sont en dessous des normes de l'OMS et du FAO. On trouve en moyenne:

Tableau 2: Les moyennes observées des éléments toxiques (Falquet, 2006).

Eléments	Moyenne
Arsenic	0.06 -2 ppm
Sélénium*	0.01 -0.04 ppm
Cadmium	0.01 - 0.1 ppm
Mercure	0.01 - 0.2 ppm
Plomb	0.6 - 5.1 ppm
Fluor*	112 - 630 ppm

(* Le fluor et le sélénium jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine, toutefois ils présentent des dangers, en cas de surdoses, que les oligo-éléments).

I.9.2. Toxiques organiques

Les éventuelles propriétés toxiques des paraffines présentes dans la spiruline ont été étudiées sur le rat et le porc (Tulliez, 1975). La rétention de l'heptadécane (constituant majeur des paraffines de la spiruline) a été étudiée chez ces animaux recevant de la spiruline comme seule source de protéines. Chez le rat on constate une accumulation qui se stabilise vers le quatrième mois, à une valeur finale qui dépend de la teneur en lipides de l'animal. Chez le porc, l'heptadécane semble beaucoup mieux métabolisé et cet hydrocarbure est très faiblement retenu. Compte tenu de ce que l'on connaît de la toxicité des hydrocarbures, aucune toxicité aiguë ou chronique n'est à craindre (Tulliez, 1975). Le 3-4-benzopyrène a été dosé dans la spiruline car il constitue un bon indicateur de la présence des hydrocarbures polycycliques aromatiques, qui sont de puissants mutagènes et cancérigènes. Les quantités observées, 2-3 ppb, sont bien en dessous de ce que l'on trouve dans la plupart des légumes courants (Chamorro-Cevallos, 1980, Bories, 1975).

I.9.3. Cyanotoxines

Certaines cyanobactéries produisent de puissantes toxines agissant sur le système nerveux ou sur le foie. Aucune contamination par de tels microorganismes n'a été mise en évidence dans le cas de spiruline cultivée, ce qui semble lié à son milieu de culture très particulier (Falquet, 2006).

I.9.4. Résidus de pesticides

La quasi-absence de ravageurs ou de parasites dans les cultures de spiruline rend inutile l'usage de quelque pesticide que ce soit. Il n'en reste pas moins que l'on ne peut exclure d'emblée une contamination provenant de l'eau utilisée pour la culture ou de l'air, sous forme d'aérosols ou de poussières. La spiruline elle-même est très sensible à la plupart des herbicides (Cohen, 1997). Etrangement, la spiruline est capable de dégrader les herbicides de type «RoundUp» (glyphosate) qui agissent sur la synthèse de la chlorophylle: elle les minéralise totalement et en utilise le phosphore ainsi libéré (Trzebiatowska, 2004). Une fois encore, l'alcalinité du milieu de culture représente une certaine protection puisque qu'elle encourage l'hydrolyse des composés des herbicides. L'ensemble de ces données explique sans doute l'absence dans la littérature de cas significatifs de contamination de spiruline par des pesticides.

I.9.5. Réactions allergiques

Contrairement à l'immense majorité des aliments courants, la spiruline ne semble pratiquement jamais provoquer de réactions allergiques, que ce soit par ingestion ou par contact. Au contraire, une activité anti-allergique semble liée à ce produit (Yang, 1997).

I.9.6. Risques de surdoses

Il n'existe à ce jour aucun cas de surdose de spiruline documenté dans la littérature scientifique. Des consommateurs de plus de 10 g/jour pendant plusieurs années d'affilé ne rapportent aucuns effets négatifs. En ce qui concerne le risque aigu, là non-plus aucune donnée ne vient fixer de limite, des consommations de plus de 100 g / jour n'ont semble-t-il eu aucune conséquence particulière (Falquet, 2006).

Chapitre II

Composition biochimique de la spiruline

La spiruline est source de protéines (60 à 70%) de son poids sec. Elle renferme également des hydrates de carbones (18 à 20%), des lipides (6 à 7%), et des vitamines A,C,H, ainsi que ceux du groupe B (Umesh, 2002 ; Batello et al., 2006 ; Merdan, 2009). La spiruline contient de l'acide gamma-linolénique (GLA), une substance aux propriétés anti-inflammatoires qui appartient à la famille des bons acides gras oméga-6 (Delpeuch et al., 1976 ; Grosogeat, 2009).

II.1. Protéines

Les protéines représentent entre 50 et 70% du poids sec, ces valeurs sont tout à fait exceptionnelles, même parmi les micro-organismes. D'un point de vue qualitatif, ces protéines sont complètes, car tous les acides aminés essentiels figurent, ils représentent 47% du poids total des protéines (Bujard *et al.*, 1996). Parmi ces acides aminés essentiels, les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) (Aychunie *et al.*, 1996; Clément *et al.*, 1967; Bujard *et al.*, 1996).

II.2. Lipides

II.2.1. Lipides totaux

En totalité ils représentent moins de 10% du poids sec (Bujard *et al.*, 1970). Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%) contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (Clément, 1975; Santillan, 1974).

II.2.2. Acides gras

L'acide γ - linolénique représente chez *Arthrospira platensis* 40%, soit environ 4% du poids sec de spiruline; de ce fait, *Arthrospira* peut être considérée comme une des meilleures sources connues d'acide γ - linolénique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes (Ciferri, 1983).

D'autres acides gras essentiels sont également présents, comme l'acide linoléique, 18:2 (12%). Notons aussi une forte proportion d'acide palmitique, 16:0, environ 25%. Quant aux sulfolipides tels que les sulfoquinovosyl-diglycérides (5% de la fraction saponifiable), ils suscitent actuellement de nouvelles recherches depuis qu'une activité protectrice contre l'infection des cellules par le VIH leur a été attribuée (Gustafson *et al.*, 1989). A noter encore l'absence d'acides gras au nombre de carbone impair (Clément, 1975) et une très faible teneur en acides gras à chaînes ramifiées (Bujard *et al.*, 1970), deux types de lipides non métabolisables par les animaux supérieurs.

II.3. Glucides

Les glucides représentent entre 15 et 25% de la matière sèche. Les glucides simples sont en très faible quantité (glucose, fructose et le saccharose), l'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que:

- Glucosanes aminés (1.9% du poids sec);
- Rhamnosanes aminés (9.7%);
- Glycogène (0.5%) (quillet, 1975).

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez *Arthrospira* est le méso- inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350- 850 mg/kg mat. sèche) (Challem *et al.*, 1981; Nippon *et al.*, 1977). Les polysaccharides présentent de multiples intérêts thérapeutiques, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN (Pang *et al.*, 1988), dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres (Qishen *et al.*, 1989) .

II.4. Acides nucléiques

Les acides nucléiques représentent de 4 à 6% de la matière sèche. La proportion d'ADN serait d'un quart à un tiers par rapport à l'ARN. La teneur en acides nucléiques de *Arthrospira* est très inférieure à celle de la généralité des unicellulaires (Ciferri, 1983).

II.5. Vitamines

II.5.1. Bêta-carotène (provitamine A)

Le β -carotène représente 80% des caroténoïdes présents dans *Arthrospira*, le reste étant composé principalement de physoxanthine et de cryptoxanthine (Palla *et al.*, 1969). On trouve entre 700 et 1700 mg de β -carotène et environ 100 mg de cryptoxanthine par kilo de spiruline sèche.

II.5.2. Tocophérols (vitamine E)

De 50 à 190 mg par kilo, (Challem *et al.*, 1981), (Nippon *et al.*, 1977), teneur comparable à celle des germes de blé. Les besoins quotidiens en vitamine E seraient de 15 U.I. (Guyton, 1986) soit 12 mg de tocophérols libres. Les propriétés anti-oxydantes de la vitamine E renforcent l'effet anti-âge du bêta-carotène.

II.5.3. Vitamines du groupe B

Bien que moins riche que la levure en vitamines du groupe B (B12 excepté), *Arthrospira* constitue pourtant une bonne source de ces cofacteurs (tableau 3).

Tableau 3: Teneur en vitamines (Falquet, 1996).

Vitamine	Teneur (mg/kg)	Besoin/jour (adulte)
Thiamine (B1)	34-50	01.50 mg
Riboflavine (B2)	30-46	01.80 mg
Pyridoxine (B6)	05-08	02.00 mg
Cyanocobalamine (B12)	01.50 - 02.00	00.003 mg
Niacine	130	20 mg
Folate	00.50	00.40 mg
Panthoténate	04.60 - 25	06 - 10 mg
Biotine	00.05	00.10 - 00.30 mg
Acide ascorbique (C)	traces	05 - 30 mg

II.5.4. Vitamine B12

Il faut souligner la teneur exceptionnelle en **vitamine B12** (cobalamine) qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande car aucun végétal courant n'en contient. *Arthrospira* en est quatre fois plus riche que le foie cru, longtemps donné comme meilleure source. Il faut pourtant noter qu'il existe une controverse à propos de la biodisponibilité réelle du complexe B12 de *Arthrospira* (Harriman *et al.*, 1989; Rule *et al.*, 1994).

II.6. Minéraux et oligo-éléments

Tableau 4: Teneur en minéraux (Falquet, 1996).

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Doses requises (mg/jour)
Calcium	1300 - 14000	1200
Fer	580 -1800	18
Phosphore	6700 - 9000	1000
Zinc	21 – 40	15
Magnésium	2000 - 2900	250-350
Cuivre	08 - 10	01.50 - 03
Chrome	02.80	00.50 - 02

Sodium	4500	500
Potassium	6400 - 15400	3500
Manganèse	25 - 37	05

Les minéraux spécialement intéressants chez *Arthrospira* sont le fer, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

La très haute teneur en fer est à souligner, on doit noter également la présence de sélénium et de fluor, aux effets positifs certains (lutte contre les radicaux libres, prévention de la carie dentaire) (Falquet, 1996).

II.7. Pigments

Arthrospira contient de nombreux pigments photosynthétiques: Chlorophylle a, β carotène, phycocyanine, phycoérythrine et environ 11 caroténoïdes. Ces pigments sont activés par la lumière et servent ainsi d'antennes pour recueillir l'énergie lumineuse totale et la transmettre aux centres de réaction de la molécule de chlorophylle (Fox, 1999).

II.7.1. La phycocyanine

La phycocyanine, principal pigment de *Arthrospira* est le seul colorant bleu alimentaire, naturel autorisé en Europe. Ce pigment absorbe et capture les photons puis transforme cette énergie lumineuse en énergie électrochimique (Fox, 1999).

Plusieurs études attestent de nombreuses et diverses activités biologiques qu'offre la phycocyanine: antioxydant, antiradicalaire, anti-inflammatoire, anti-tumorale, amélioration du système immunitaire, hépatoprotection et détoxification. (Lamela *et al.*, 200).

Tableau 5: Composition chimique en pigments dans la Spiruline(*Arthrospira*) (Belay, 1997).

Pigments	Teneur (mg /100g)
Caroténoïdes	370
Chlorophylle a	1000
Phycocyanine	14000

Chapitre III

conditions de culture

III.1. Bases techniques de la production

L'environnement doit comprendre une zone de température convenant à la plante, de la lumière fournissant l'énergie pour la photosynthèse, et de l'eau; avec en plus, en algoculture, un certain mouvement de l'eau pour assurer une répartition moyenne de la lumière et des éléments nutritifs. Un équilibre acido-basique et un pH favorable à la plante doivent être maintenus. Un rythme de récolte et d'ajout d'éléments nutritifs doit être établi et la culture doit se faire dans un système ou un bassin convenablement conçu (FOX, 1999).

III.2. Milieu de culture

La spiruline pousse dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (toutefois sans excès de chlore à défaut de tuer les algues) ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. Une eau dure produira des boues minérales (plus ou moins abondantes selon la teneur en calcium, magnésium et fer), qui décantent rapidement et n'encombrent pas particulièrement la culture, à condition que l'ensemencement initial en spirulines soit assez concentré. La composition des milieux de culture peut varier énormément, selon la disponibilité des produits chimiques nécessaires à leur élaboration (JOURDAN, 1999). Le Tableau 6 donne la composition chimique d'un milieu de culture typique (FOX, 1999).

Tableau 6: Analyse d'un milieu de culture typique (FOX, 1999).

Eléments	Concentration en mg/L
Bicarbonate	2800
Phosphate	614
Sulfate	25
Chlore	350
Sodium	3030
Potassium	4380
Magnésium	642
Calcium	10
Ammonium	5
Ammoniac	5
Fer	1

III.3. Facteurs essentiels de la culture

III.3.1. Température

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme (37° C), La température du liquide de culture influence directement la vitesse de croissance de la spiruline. Bien qu'assez résistante au froid (jusqu'à 3- 5°C au dessus de zéro), la spiruline ne commence à croître d'une manière appréciable qu'au dessus de 20°C.

La vitesse de croissance est maximale vers 37-40°C. Au delà de cette température, on risque rapidement une destruction de la culture (qui survient à coup sûr après quelques heures au delà de 43-44°C). Notons, les brusques variations de température sont néfastes (FLAQUET.1996).

III.3.2. Lumière

Comme en diminuant l'éclairement, on diminue aussi la photosynthèse totale, il faut, si possible, éviter la photolyse. Autrement dit deux conditions sont nécessaires pour la croissance de la spiruline:

- Ensemencer le bassin avec assez d'algues pour que la lumière ne puisse pas atteindre le fond du bassin. La vérification peut se faire avec un simple disque de Secchi.
- Agiter suffisamment la culture pour que les filaments individuels ne restent pas plus d'une demi-minute à la surface en plein soleil, mais plongent et remontent fréquemment. Les «roues à aubes» constituent les systèmes d'agitation les plus utilisés; le but est de remuer l'eau et non de créer un dénivellement comme on le croit généralement (FOX, 1999).

III.3.3. agitation

Toutes les microalgues (notamment celle de la spiruline) ont tendance à se sédimenter. Cela indique qu'il est nécessaire de les agiter quotidiennement (JOURDAN, 1999).

Il est impératif d'agiter, au moins occasionnellement (2-4 fois par jour), une culture de spiruline. On favorise ainsi une dispersion homogène de la spiruline dans le liquide, et son exposition à la lumière. Une agitation trop violente endommage la spiruline (fragments visibles au microscope) et provoque l'apparition de mousse (FLAQUET.1996).

III.3.4. Salinité

Les limites de salinité et d'alcalinité permises, sont généralement assez larges, mais on se place souvent vers les minima, cela pour des raisons d'économie et de productivité, avec une salinité totale de 13 g/l; lorsque le carbone est apporté par le bicarbonate, on doit travailler à forte alcalinité pour réduire le volume des purges (JOURDAN, 1999).

L'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium (NaHCO_3), mais ce dernier peut être remplacé, en partie, par de la soude caustique ou du carbonate de sodium (Na_2CO_3) pour relever le pH initial du milieu de culture (FOX, 1999).

Le sel de cuisine iodé et fluoré peut convenir mais souvent il contient jusqu'à 2 % de magnésium insoluble. Par contre l'emploi d'un sel peu raffiné est recommandé à cause de sa teneur en oligo-éléments. Si le sel apporte trop de magnésium, il y aura floculation de sels minéraux insolubles, surtout à pH assez élevé, ce qui peut être très gênant pour une culture qu'on ensemence peu concentrée en spiruline: celle-ci est en effet facilement entraînée par les floculants et tombe au fond sans que l'on puisse la récupérer (JOURDAN, 1999).

III.3.5. pH

Pour aboutir à une bonne croissance de la spiruline, le milieu de culture doit présenter un degré d'alcalinité situé entre 8,5 et 10,5 (Jourdan, 2012).

III.4. Nourriture minérale de la spiruline

En plus du sel et de la soude, le milieu de culture contient des engrais pour assurer la croissance des spirulines comme en agriculture habituelle: azote (N), phosphore (P), potassium (K) sont les trois principaux éléments, mais soufre (S), magnésium (Mg), calcium (Ca) et fer (Fe) doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais. Une analyse de l'eau et du sel est utile pour calculer la dose de Mg, Ca et Fe à ajouter car un excès de ces éléments est nocif (perte de phosphore, formation de boues). L'eau, le sel et les engrais apportent généralement assez d'oligoéléments (bore, zinc, cobalt, molybdène, cuivre, etc.).

Les sources d'azote préférées des spirulines sont l'ammoniac et l'urée, mais ces produits sont toxiques au-delà d'une concentration limite à respecter impérativement (l'urée s'hydrolyse peu à peu en ammoniac). C'est pourquoi on préfère souvent, au moins lors de la préparation du milieu de culture, utiliser un nitrate dont on peut mettre une forte dose, constituant une réserve d'azote à long terme (JOURDAN, 1999).

III.5. Ensemencement

III.5.1. choix de la souche

Il existe des spirulines de "races" (souches) différentes, bien qu'elles aient toutes des caractères communs qui les distinguent des autres algues. On reconnaît très vite au microscope ou même à la loupe de fort grossissement (25 fois) si les spirulines sont spiralées ou droites mais il est moins facile de dire de quelle souche, car les spirulines ont une forte tendance à changer de taille et de forme (spiralée plus ou moins serrée, ondulée ou droite). Un trop fort pourcentage de droites conduit à des difficultés de récolte. Donc, il faut prendre de préférence une semence 100 % spiralée, de grande taille, d'un beau vert tirant vers le bleu-vert, filtrant facilement.

Pour ensemer il suffit de transvaser dans du milieu de culture neuf, un certain volume de culture provenant d'un autre bassin en production jusqu'à ce que la couleur devienne verte (JOURDAN, 1999).

III.5.2. Mesure de la concentration d'une culture de spiruline

La concentration d'une culture peut être évaluée par l'intensité de sa couleur.

On utilise pour cela un " *disque de Secchi* " : il s'agit d'une règle graduée à l'extrémité de laquelle se trouve fixé (perpendiculairement) un petit disque blanc. On plonge cet instrument dans la culture, jusqu'au point où le disque cesse d'être visible. La profondeur du disque est

alors lue sur la règle graduée. 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 2 cm indiquent qu'il est nécessaire de diluer la culture, ou de récolter fortement (FLAQUET.1996).

III.6. Récolte

La récolte a lieu le matin, par filtration de l'eau des bassins dans des tissus spéciaux. La spiruline fraîche récoltée se présente sous forme d'une masse spongieuse.

Il vaut mieux de récolter le matin, car la teneur en protéine de la spiruline y est généralement plus élevée que le soir (JOURDAN, 1999).

III.7. Séchage

Le séchage est le seul moyen sûr de conserver et de distribuer la spiruline sans chaîne de froid. On peut sécher à l'ombre simplement dans un courant d'air à température ambiante, sous moustiquaire (il suffit que l'air soit à température nettement supérieure à son point de rosée)

Le séchage au plein soleil en plein air est le plus rapide et le moins coûteux, mais il a des inconvénients: le produit est exposé aux poussières et aux animaux (il faut au minimum le protéger par une moustiquaire) (FOX, 1999).

Le temps de séchage varie selon l'épaisseur de biomasse fraîche sur chaque plateau, mais aussi selon le nombre de plateaux superposés, le % de sec dans la biomasse, la souche (les spiralées sèchent un peu plus vite), la température et l'humidité de l'air et, bien sûr, le débit d'air: dans la pratique, en général il se situe autour de 4 heures, mais il est parfaitement possible de sécher en une heure si l'on veut (JOURDAN, 1999).

III.8. conditionnement

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.

Dans le commerce, la spiruline se présente, le plus souvent, sous forme poudre bleu-verte déshydratée. Cette poudre est moins chère que les autres formes de la spiruline (comprimé, gâteau sec, jus, etc.)

III.9. Suivi de la culture

III.9.1. Couleur

Le diagnostic des couleurs fournit généralement une bonne appréciation de l'état de la culture.

Une couleur pâle indique souvent un manque d'azote fixé et/ou de CO₂, et aussi, que du magnésium est nécessaire. Si l'examen au microscope ne montre qu'une couleur pâle, il faut vérifier le pH. Au delà de 10.5, il y a manque de CO₂ (ou de bicarbonate).

Une couleur pâle, surtout manquant de pigment bleu (phycocyanine), avec un pH en dessous de 10.50, indique le manque d'azote fixé.

Si la couleur pâle est due à des cellules «vides», la culture a probablement été stressée, soit par un changement brusque de pH, soit surtout par une brusque modification de la pression osmotique dans les cellules.

Si, sous forte lumière, la culture est jaune ou vert-olive, il y a photolyse, ou destruction de la chlorophylle. Dans les conditions les plus sévères: forte intensité lumineuse, sursaturation en oxygène et faible température, on peut perdre la culture en quelques heures. Une agitation renforcée peut réduire la concentration en oxygène et si possible la culture doit être ombragée (FOX, 1999).

III.9.2. Renouvellement du milieu de culture

Le milieu de culture doit rester peu coloré et peu trouble pour assurer un bon développement de cette algue. Normalement les bactéries et le zooplancton se chargent de la minéralisation et du recyclage des déchets biologiques. Mais il peut arriver que la production de déchets dépasse leur élimination (surtout dans les bassins à productivité poussée, et/ou pour des hauteurs de liquide faibles); il se peut aussi que le milieu s'épuise en oligoéléments ou que la salinité ait tendance à devenir trop élevée (en cas d'alimentation carbonée sous forme de bicarbonate ou d'alimentation en azote sous forme de nitrates): il faut alors remplacer le milieu de culture ou pratiquer une purge. (JOURDAN, 1999).

III.9.3. Anomalies

On constate parfois que la vitesse de croissance de la spiruline d'un bassin varie cycliquement, avec une période de l'ordre de 15 jours.

L'excès de lumière, surtout à froid ou en l'absence d'agitation, ou encore à trop faible concentration en spiruline, ou l'excès de pH prolongé (pH>11,3) produisent une décoloration, puis la destruction progressive de la spiruline. Si trop de spirulines ont été cassées, ou détruites, le milieu de culture devient sale (trouble, moussant jaune, ou un peu visqueux, la filtration et le pressage lors des récoltes deviennent difficiles, voire impossibles (JOURDAN, 1999).

Une mauvaise odeur correspond généralement à un mauvais état ou à une récolte insuffisante, ou à une fermentation anaérobie ou encore à une addition excessive d'urée, de sucre ou d'urine (FLAQUET.1996).

III.9.4. contamination de la culture

Sauf protection complète du bassin, il est inévitable que des insectes ou parfois de petits animaux (serpents, lézards, grenouilles, souris, escargots), des feuilles et autres débris végétaux tombent dans le bassin.

Des germes de moisissures sont toujours présents dans les cultures car des moisissures apparaissent régulièrement sur le flottant laissé longtemps sans agitation

(JOURDAN, 1999).

III.9.5. Empoisonnement chimique de la spiruline

Un gros excès d'urée ou d'ammoniac provoque la mort de la majorité des spirulines, le milieu de culture devenant "laiteux" et des boues abondantes se formant; mais en général il y a assez de survivantes (sinon on peut réensemencer) pour régénérer spontanément la culture en une dizaine de jours si l'on prend la précaution d'ombrer (FLAQUET, 1996).

Si l'oxygène peut être considéré comme un poison pour la spiruline quand il est en sursaturation pendant la photosynthèse active, ce n'est pas le cas en l'absence de lumière puisque la spiruline a alors besoin d'oxygène pour respirer, comme les autres microorganismes aérobies présents (FOX, 1999).

III.9.6. Maladies

Il arrive, très rarement, que des spirulines présentent des déformations, ou une boursouffure, ou alors des excréctions jaunes à une extrémité ou sur un côté des filaments, faisant penser à un éclatement de la paroi avec épanchement du contenu des cellules (spirulines dites "étripées") (Figure 5). Dans la pratique, ces anomalies disparaissent d'elles-mêmes au bout de quelques jours de marche dans des conditions normales.

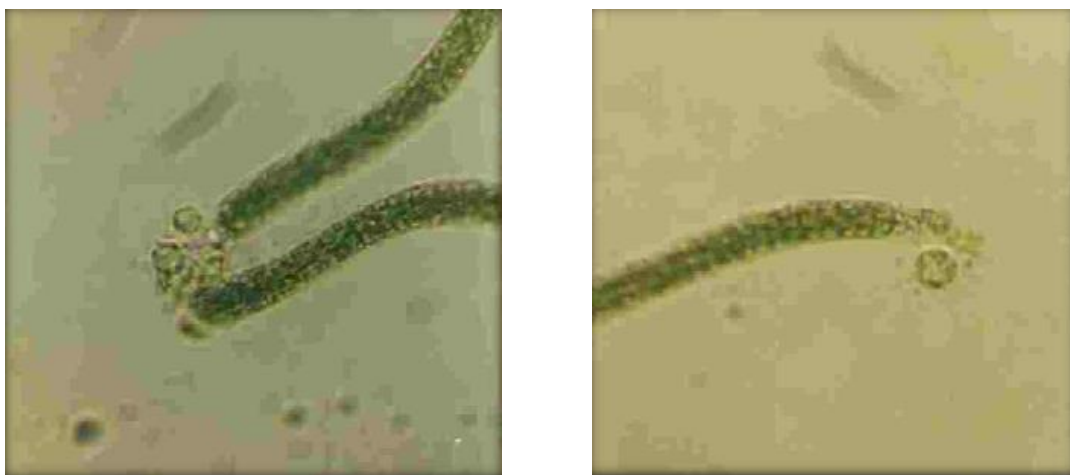


Figure 5: Spirulines "étripées" vues au microscope (JOURDAN, 1999).

Chapitre IV

Production de la spiruline

Pour couvrir la demande croissante, la spiruline doit être produite en grande quantité dans des bassins de culture. En fonction de la surface totale d'exploitation des bassins et des moyens technologiques utilisés, on distingue la culture artisanale et la culture industrielle. (Jourdan, 2006).

IV.1. Cultures artisanales

Consiste à construire des bassins et un réservoir en béton près d'un lac. Cette méthode nécessite le remplissage du réservoir par de l'eau pompée du lac puis passe par gravité dans un filtre à sable avant d'arriver dans les bassins de culture de spiruline. Ce système permet d'obtenir un produit de haute qualité pour la consommation humaine (filtration avec filtre de 50 μm avant l'arrivée dans les bassins) et également une récolte d'algues moins pure (filtre 150 μm), utilisable pour l'aviculture ou l'aquaculture (Scheldeman *et al.* 1999). Cette culture dépend de plusieurs facteurs:

IV.1.1. Facteurs climatiques

- **Température:** Idéalement comprise entre 37°C à 40°C (Jourdan, 2006).

- **Pluviométrie:** Les eaux de pluie sont intéressantes car propres et faible en minéraux, tout le manque ou l'excès d'eau reste néfaste à la culture. Sous les climats à faible pluviométrie, ou à saison sèche longue, il est donc nécessaire de prévoir des réservoirs d'eau de pluie pour compenser l'évaporation des bassins (Scheldeman *et al.* 1999).

IV.1.2. Facteurs concernant les bassins de culture

Les bassins en dur sont les plus durables (durée moyenne de 10 ans) et les plus faciles à nettoyer (Cruchot, 2008). Il est recommandé qu'ils soient de forme arrondie et sans angles vifs et un fond plat avec une légère pente vers l'ouverture de vidange. La profondeur idéale est comprise entre 20 et 40 cm (Jourdan, 2006).

- **Couverture:** Il est souvent utile, voire nécessaire, d'installer une serre ou un toit sur le bassin cela permet de le protéger contre les excès de pluie, de soleil ou du froid, et contre les chutes de feuilles, fientes d'oiseaux, vents de sable et débris divers, sans pour autant empêcher l'aération. (Scheldeman *et al.* 1999).

- **Agitation:** L'agitation du milieu de culture constitue un bon moyen d'éviter la photolyse sans modifier l'intensité lumineuse, en mettant alternativement les filaments à la lumière et à l'ombre. La fréquence d'agitation est de minimum 4 fois par jour si agitation manuelle, agitation continue si le système est électrique et sans risque de rompre les filaments, enfin agitation pendant 15 minutes par heure en utilisant des pompes immergées (Cruchot, 2008). L'agitation permet également de s'assurer que les filaments ne restent pas dans des micro-zones où les éléments nutritifs essentiels sont épuisés. (Baillinger, 1994) (Jourdan, 2006).

IV.1.3. Milieu de culture

En général, les eaux de pluie, de source ou de forage conviennent bien pour la préparation d'un milieu de culture. La salinité est apportée par les produits chimiques servant d'engrais et complétée par du chlorure de sodium et doit être au minimum égale à 13 g/l correspondant à la somme des poids de tous les sels dissous dans le milieu (Belay *et al.* 1996) (Jourdan, 2006) (Cruchot, 2008), l'alcalinité est apportée par le bicarbonate de sodium ou le carbonate de sodium assurent l'alcalinité du milieu et enfin pour assurer la croissance de la spiruline on ajoute des intrants qui contiennent de l'azote, du phosphore et du potassium, et des éléments qui sont peu présents dans l'eau, tel que: le soufre, le magnésium, le calcium et le fer (Jourdan, 2006). En pratique, la composition des milieux de culture est variable, en fonction de la disponibilité ou du prix d'achat des produits chimiques nécessaires à leurs élaborations. (Belay *et al.* 1996).

IV.1.4. Récolte

Il vaut mieux récolter le matin car la teneur de la spiruline en protéines y est généralement plus élevée que le soir, mais aussi pour d'autres raisons: chaleur excessive ensuite, nécessité de mettre la récolte à sécher dès que possible (surtout en cas de séchage solaire). Par temps couvert cette obligation de récolte tôt le matin est évidemment moins impérieuse, et par beau temps on peut toujours ombrer le filtre. Quel que soit le temps, si l'on opère en plein air, il faut couvrir le filtre pour éviter que la biomasse récoltée ne se dégrade et ne se salisse (Jourdan, 2006).

IV.1.4.1. Filtration

La récolte consiste à filtrer une partie de la culture sur une toile fine (maille 25 à 50 μ), en recyclant le filtrat dans le bassin, directement ou à travers un système de purification (filtre à sable, décantation, oxydation biologique). La culture est envoyée au filtre à travers un tamis de maille 300 μ destiné à intercepter les corps étrangers tels qu'insectes, larves, feuilles, boues ou grumeaux de spirulines. Un tamis de maille plus fine peut être nécessaire pour arrêter d'éventuels rotifères (l'ouverture de maille est choisie pour ne pas arrêter trop de spirulines). Après arrêt de l'envoi de culture sur le filtre, on laisse égoutter, puis on rassemble la pâte verte obtenue, dite "biomasse". La biomasse de spirulines contenant moins de 75 % de spirulines droites et provenant d'une culture en bon état, de pH et teneur en ammonium pas trop élevés, se filtre facilement et s'essore facilement par pressage. Une toile de filtre en monofilaments polyamide (Nylon) ou polyester (Tergal) est préférable à une toile en coton parce qu'elle facilite le décollement de la biomasse récoltée et se lave ensuite plus facilement (Jourdan, 2006).

IV.1.4.2. Lavage et Essorage (pressage)

D'une manière générale il est recommandé de ne laver la biomasse que si:

- On doit récolter une culture sale ou malodorante,
- Ou trop riche en nitrates,

- Si l'essorage est impossible,
- Ou pour produire de la biomasse pour régimes sans sel à consommer fraîche.

Si certaines spirulines supportent le lavage à l'eau douce, d'autres se décolorent ou éclatent à son contact et ne peuvent être lavées qu'à l'eau salée ou avec du milieu de culture neuf à la même salinité (ou plus exactement à la même force ionique) que le bassin récolté. En effet les spirulines mises en contact avec un milieu de salinité différente de leur milieu d'origine réagissent quasi instantanément en absorbant ou perdant de l'eau pour se mettre en équilibre osmotique avec le milieu, ce qui peut faire éclater leur paroi. Les ondulées (Paracas) résistent mieux à l'éclatement que les spiralées (Lonar). Le lavage risque aussi de causer des contaminations microbiennes. Il faut noter aussi que la spiruline lavée à l'eau douce est très fade au goût (Jourdan, 2006). L'essorage peut se pratiquer avec une essoreuse ou sur filtre à vide (trompe à eau ou pompe à vide), mais plus simplement par pression de la manière suivante: la biomasse égouttée est placée dans une toile du même type que celle utilisée pour la filtration, et elle est pressée entre deux nattes ou planches rainurées: la majeure partie de l'eau libre est exprimée par la pression (0,2 kg/cm² suffit mais on peut monter à 1 kg/cm²). La presse peut n'être qu'une pile de poids, mais un presseur à vis supérieure, ou un cric de voiture pour exercer la pression, ou une presse à fromage à poids et levier. L'essorage/pressage doit se faire sans tarder et il faut surtout éviter que la biomasse souffre de la chaleur en attendant. Le pressage dure au moins 15 minutes, car il faut du temps au liquide pour cheminer à travers les très fins interstices ou capillaires entre les spirulines comprimées. La biomasse essorée ou pressée doit être refroidie le plus tôt possible pour qu'elle ne s'abîme pas. Même si elle doit être séchée, on a intérêt à la mettre au frigo en attendant l'extrusion, sinon des odeurs désagréables peuvent se dégager lors de l'extrusion (Jourdan, 2006).

IV.1.4.3. Extrusion et Séchage

Le séchage est le seul moyen sûr de conserver et de distribuer la spiruline sans chaîne de froid. Dans l'industrie la spiruline est classiquement séchée par « atomisation » (spray-drying), dans un courant de gaz de combustion à très haute température mais pendant un temps très court (c'est en fait le jus de spiruline broyée que l'on sèche). Dans la production artisanale, au contraire, ce sont les filaments de spiruline entiers que l'on sèche: le temps de séchage est plus long, mais l'intérieur des cellules n'est pas soumis au contact direct des gaz chauds. Si la spiruline pressée ne peut être séchée de suite, il faut la conserver en récipient fermé au réfrigérateur bien froid et pas trop longtemps (sinon elle dégage une odeur désagréable lors de l'extrusion). La biomasse lavée ne peut se conserver, même au réfrigérateur (sauf si elle a été lavée avec de l'eau salée isotonique), à l'exception des souches Paracas qui supportent bien le lavage à l'eau douce (Jourdan, 2006).

- **Extrusion:** Le séchage doit être suffisamment rapide pour que le produit sèche sans fermenter. La biomasse issue du pressage est d'abord répartie par extrusion en "spaghetti" sur un plateau, si la biomasse est trop fluide, on l'étale en couche mince sur un film de polyéthylène (méthode "indienne"). La biomasse est séchée au soleil, ou, dans un courant d'air à faible humidité relative et forte capacité d'absorption d'eau (séchoir solaire indirect, ou électrique, ou à gaz, ou déshumidificateur), jusqu'à ce qu'elle ne soit plus molle du tout, se

détache facilement du support, et se broie facilement. L'extrusion en spaghetti peut se faire à l'aide d'un décorateur de gâteau, ou avec un instrument de cuisine courant ou une boîte à fond percé de petits trous et d'un piston, ou à l'aide d'un pistolet à colle silicone modifié (bouchon PVC de 50 mm percé de trous de 2 mm), ou avec un poussoir à saucisses, etc. (Jourdan, 2006).

- **Séchage:** On peut sécher à l'ombre simplement dans un courant d'air à température ambiante, sous moustiquaire (il suffit que l'air soit à température nettement supérieure à son point de rosée). On peut sécher facilement la spiruline dans une armoire métallique munie d'un déshumidificateur et d'un ventilateur recyclant l'air à travers les plateaux de séchage. Le déshumidificateur doit être capable d'abaisser l'humidité relative de l'air à 30 %. Le séchage au plein soleil en plein air est le plus rapide et le moins coûteux, mais il a des inconvénients: le produit est exposé aux poussières et aux animaux, et il risque de bleuir en surface par destruction de la chlorophylle par les ultra-violets (Jourdan, 2006).

Le temps de séchage varie selon:

- L'épaisseur de la biomasse fraîche sur chaque plateau,
- Le nombre de plateaux superposés,
- Le % de sec dans la biomasse,
- La souche (les spiralées sèchent un peu plus vite),
- La température et l'humidité de l'air,
- Le débit d'air.

Dans la pratique, en général il se situe autour de 4 heures, mais il est parfaitement possible de sécher en une heure si l'on veut. Une biomasse de bonne qualité, pressée bien ferme, sèche sans que les cylindres des spaghettis ne se déforment: ils restent cylindriques, mais évidemment de diamètre réduit (rétréci) (Jourdan, 2006). Le séchage peut se faire en deux stades, surtout lorsque l'air est humide:

Un séchage à basse température (40-50°C) mais à gros débit d'air (vitesse d'air de 1 m/s) autorisant une charge élevée de biomasse

b) un séchage à débit d'air faible mais à plus haute température (65-80°C), assurant à la fois une certaine pasteurisation et l'extraction de l'eau jusqu'à 4 % d'eau en une heure (ou même beaucoup moins) (Jourdan, 2006).

IV.1.4.4. Broyage

La spiruline bien séchée est craquante, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer au moulin à café en une poudre plus ou moins fine selon le goût de chacun. La spiruline doit contenir moins de 9 % d'eau pour bien se conserver (Jourdan, 2006).

IV.1.4.5. Conditionnement

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, il est préférable de faire le vide dans les sachets, dans ce cas le produit peut se conserver 5 ans. Si l'on ne peut pas sceller sous vide, l'absorption de l'oxygène restant dans le sachet convenablement scellé provoquera souvent sa mise en "sous vide" spontanée en quelques jours (Jourdan, 2006).

IV.2. Cultures industrielles

Les recherches concernant le développement du genre *Arthrospira* en milieu naturel et en milieux contrôlés, qui ont permis l'élaboration de protocoles visant à optimiser la culture des spirulines de l'échelle familiale à l'échelle industrielle. La production industrielle est principalement commercialisée en tant que complément alimentaire "de confort" dans les pays de l'hémisphère Nord. Les installations industrielles de production de spiruline sont pensées par rapport à un ensemble de normes sanitaires et des conditions environnementales très saines: la qualité de l'eau, de l'air et de la nourriture. Les technologies utilisées pour la culture industrielle sont issues de la recherche scientifique, dans le but de maximiser les rendements de production durant toute l'année même dans des climats tempérés qui sont trop froids pour envisager des cultures en plein air, les chercheurs ont étudié, durant ces 20 dernières années, d'autres systèmes, et en particulier la production en photobioréacteurs. De plus, la surface unitaire et la surface totale des bassins de culture sont nettement plus importantes dans le cadre des grosses exploitations industrielles, par rapport aux exploitations artisanales. Concernant l'agitation du milieu de culture, du fait de la forme des bassins industriels, le brassage s'effectue toujours mécaniquement, grâce à de grandes roues à aubes. Le séchage industriel se fait par pulvérisation dans l'air chaud (spray-drying= atomisation), principale méthode actuel (Cruchot, 2008).

IV.3. Production mondiale et régionale

1 kilo de spiruline est produit dans le monde toutes les 3 secondes environ, surtout en Chine et aux Etats-Unis. Cela représente une production annuelle de 5.000 tonnes de spiruline (www.planetoscope.com). La culture de la micro-algue ne nécessite ni traitement, ni cuisson, n'entraîne aucune pollution donc il est difficile d'obtenir des renseignements permettant de connaître la production mondiale actuelle et les coûts de la Spiruline, une étude réalisée en 2000 par le bureau d'étude Tractebel Consult en association avec le Centre Universitaire de Biotechnologie Algale (CUBIA), Belgique montre que la production mondiale a régulièrement augmenté surtout depuis 1995, de 1400T en 1995 à 3500T en 2000, elle est supérieure à 4000T (*figure 5*). Aujourd'hui. Les Etats-Unis détiennent 50% de la production mondiale. Deux pays seulement en Europe produisent de la spiruline; il s'agit de la France et de la Hongrie. En Algérie, la production de la Spiruline reste très faible. A notre connaissance il existe quelques fermes de culture artisanale tel que: la ferme de M. Hiri à Tamanrasset et la ferme de M. REDOUANE à Oran.

La notoriété de la spiruline ne cesse de croître et se limite de moins en moins à quelques cercles d'initiés comme c'était encore le cas il y a 10 ans. (Rappel: la ration journalière est de l'ordre de 05 grammes pour un adulte, rien à voir donc avec les volumes des grandes céréales...), de plus, certains organismes internationaux s'intéressent désormais à la spiruline: la FAO par exemple a édité un rapport en 2008 (« A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish ») confirmant les importantes potentialités de la spiruline.

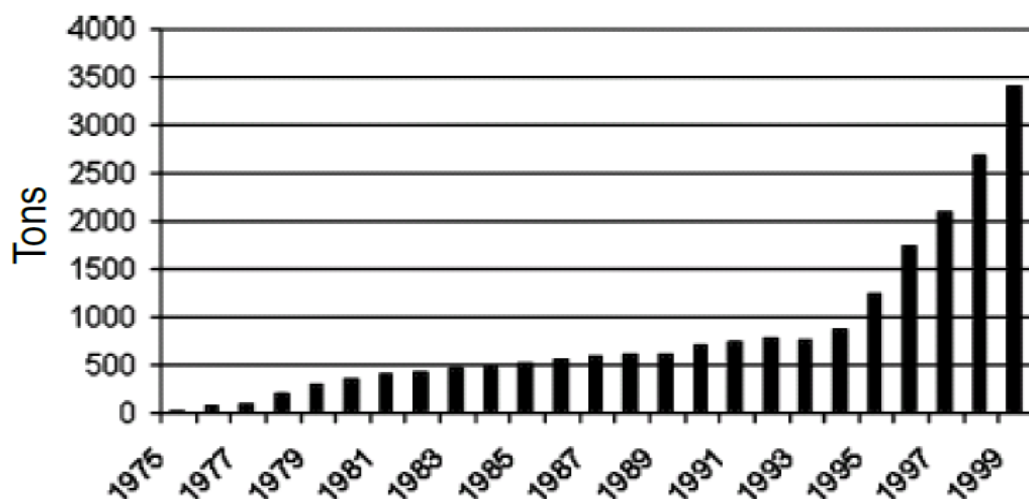


Figure 6: Production mondiale de Spiruline entre 1975 et 1999 en tons (1 tons = 1,016 tonnes) (Pulz et al. 2004).

Chapitre V

Intérêts alimentaires, thérapeutiques, et biotechnologiques

V.1. Aspects alimentaires

De par sa composition, *Arthrospira* nous offre plusieurs propriétés bénéfiques et nombreuses filières d'applications représentées comme suite:

Le genre *Arthrospira* est connu pour sa richesse en protéines mentionnées précédemment. Ces protéines ont en plus l'avantage d'être facilement assimilable par l'organisme, ce qui évite l'emploi de la cuisson qui altère les nutriments et les vitamines.

La digestibilité de *Arthrospira* est en plus accrue par l'absence de paroi cellulosique dans la cellule, remplacée par une enveloppe de muréine fragile.

L'efficacité protéique (PER) d'un aliment est déterminé par le rapport «Gain de poids de l'animal ou de l'individu / poids de protéines ingérées». La protéine de référence est souvent le lactalbumine ou bien la caséine, laquelle présente un PER de 2.5; *Arthrospira* seule, au cours d'expériences menées sur le rat, a un PER de 1.90, tandis qu'accompagné de riz dans une proportion égale, cette valeur s'élève à 2.40 (Anusuya *et al.*, 1983). En plus elle figure aussi parmi les meilleures sources d'acide gras essentiel, ces acides sont des précurseurs des prostaglandines qui jouent le rôle de médiateurs chimiques dans les réactions inflammatoires et immunitaires.

Cependant, *Arthrospira* a été recommandée comme supplément alimentaire en cas de carence en acides gras essentiels (Hudson *et al.*, 1974).

Des études cliniques ont également démontré l'excellente utilisation des caroténoïdes de *Arthrospira* chez l'homme (Annapura *et al.*, 1991). De très faibles doses de *Arthrospira* suffisent à réduire considérablement les risques de cécité et d'atteintes neurologiques consécutives à la déficience en vitamine A chez l'enfant. Du fait du nombre croissant d'indices suggérant une série d'effets anti-cancéreux des caroténoïdes, divers extraits de spiruline ont été testés dans ce cadre. (Schwartz *et al.*, 1987; Schwartz *et al.*, 1988).

Parmi les éléments minéraux contenus dans *Arthrospira*, le fer est sans doute le plus intéressant, en effet la biodisponibilité du fer a été démontrée tant chez le rat que chez l'homme (Johnson *et al.*, 1986).

V.2. Aspects thérapeutiques

Pour éliminer les radicaux libres dans l'organisme qui peuvent être à l'origine du cancer, notre organisme a besoin d'apports en vitamines anti-oxydantes, caroténoïdes et autres micronutriments. Le β -carotène, présent en quantité très importante dans *Arthrospira*, est l'un des principaux caroténoïdes impliqués dans ce système de défense de l'organisme (Fedkovic *et al.*, 1993).

En 1996, des chercheurs japonais découvrent et baptisent un extrait aqueux de spiruline particulièrement riche en calcium et en soufre, «le Calcium-spirulan» qui empêche la pénétration de la membrane cellulaire par certains virus comme le VIH-1, le Herpes Simplex,

le virus de la grippe de type A et le virus de la rougeole. La phycocyanine est aussi connue pour son effet immunostimulant et elle est aussi utilisée en imagerie médicale comme traceur fluorescent. Il a été aussi prouvé que *Arthrospira* agit comme hypotenseur parce qu'elle contient de l'acide γ -linoléique (Sall *et al.*, 1999).

V.3. Aspects toxicologiques

Arthrospira destinée à l'alimentation humaine est autorisée à la vente depuis de nombreuses années dans les pays industrialisés. Elle est classée GRAS (Generally Recognized As Safe) par la Food and Drug Administration aux Etats-Unis (Falquet, 1996).

La conservation des préparations de spiruline séchée (*Arthrospira*) ne semble poser aucun problème puisque ce produit paraît tout à fait résistant aux moisissures. Ainsi aucune détection d'*Aspergillus flavus* ni d'aflatoxine (sécrotée par ce dernier) dans des lots de spiruline (Jacquet, 1975).

V.4. Aspects biotechnologiques

Les propriétés nutritionnelles de *Arthrospira* en font une source alimentaire qui mérite une attention particulière dans les pays en développement où se pose avec acuité un problème de disponibilités alimentaires et malnutrition. C'est pourquoi il est souhaitable de développer sa production aussi bien à l'échelle domestique pour la consommation familiale qu'au niveau des lacs et étangs. Le développement de la production de spiruline devra s'accompagner de la mise au point des systèmes de culture assurant une meilleure production (Sall *et al.*, 1999).

Deuxième partie

Matériels et méthodes

1. Souche

La souche utiliser dans ce travail est une spiruline de l'espèce *Arthrospira platensis* type M2 (morphologie droite), Cette souche est originaire de la région de Tamanrasset a été remise par Monsieur HABITA le directeur de la Direction de la pêche et des ressources halieutiques de Ouargla. Le volume de la souche reçu été de 800 ml dans une bouteille de 1.5 L

2. Matériel utilisé

2.1. Matériel biologique et chimique

- La souche de spiruline (800 ml);
- Milieu de culture (Milieu Hiri).

2.2. Matériel de laboratoire

- Balance électronique;
- Thermomètre;
- Microscope optique;
- Papier aluminium;
- Lames et lamelles;
- Spectrophotomètre;
- Plaque chauffante;
- pH mètre.

3. Dispositif expérimental :

Pour réaliser ce travail, on a confectionné un récipient rectangulaire en verre a les dimensions suivantes (Figure7):

40 cm de long, 25 cm de large et 20 cm de hauteur. D'une capacité de 20 litre est utilisé pour l'ensemencement du volume de la souche qui est d'un 800ml avec 16 L de milieu de culture.



Figure7 : Dispositif expérimental

3.1. Milieu de culture

Le milieu de culture choisi est celui de M. Hiri. Le choix de ce milieu était due au faite que ce milieu est le plus convenable pour la souche (milieu initial de la souche). Il faut signaler qu'à cause de l'indisponibilité de quelques composants chimiques nous étions contraint de les remplacer par d'autres composants disponibles et qui apportent les mêmes éléments nécessaires à la réalisation du milieu de culture (Tableau 7). Le Natron remplacer par du carbonate de sodium et du bicarbonate de sodium, en gardant la même proportion, bien sûr ces substitutions ont été suggérées par M. Hiri.

Tableau 7: Composition chimique du milieu de culture Hiri

Composant	Quantité g/l	Quantité g/16l
Natron remplacer par du Carbonate et Bicarbonate de soude	16	256
Urée ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$)	01	16
Chlorure de Sodium (NaCl)	01	16
Phosphate d'Ammonium ($\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$	00.10	01.60
Sulfate de Magnésium (MgSO_4)	00.10	01.60
Sulfate de Potassium (K_2SO_4)	00.50	08
Chlorure de Calcium ($\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$)	00.1	01.60
Sulfate de Fer (Fe_2SO_4)	00.01	00.16

3.2. Ensemencement

L'ensemencement de récipient a été réalisé avec une proportion de 1/20 (1 volume de souche pour 20 volumes de milieu de culture), de la manière suivante :

0.8 Litre de souche pour 16 litre de milieu de culture.

La hauteur du milieu de culture dans le récipient est en moyenne de 17cm, Le niveau du milieu de culture dans le récipient a été mesuré à l'aide une règle graduée.

3.3. Conditions de culture

Le récipient a été installé sur une paille au laboratoire afin d'assurer la protection des cultures, et d'essayer de créer un système fermé avec la température ambiante.

3.3.1. Agitation

Une agitation était nécessaire pour permettre aux cellules l'accès aux nutriments et à la lumière, elle a été assurée par une bulleuse d'aquarium que nous avons actionné pendant toute la période de l'expérimentation (Figure 8).



Figure 8 : agitation de récipient.

3.3.2. Eclairage

L'éclairage naturel sans ajouter une source lumineuse la nuit.

4. Evolution du développement algal

Le contrôle des cultures des échantillons de Spiruline a été estimée par :

4.1. Evolution des paramètres physico-chimiques

Le suivi est réalisé par des mesures quotidiennes de la température et du pH deux fois par jour (matin, après midi). Ces paramètres sont mesurés à l'aide d'un pH-mètre de paillasse muni d'une sonde pour la mesure de la température.

4.2. Etude de caractérisation de la Spiruline

Elle a été réalisée par le biais de :

- Etude de la forme et la couleur de la Spiruline : la couleur et la forme peuvent varier en fonction du caractère physique et chimique du milieu. L'observation des échantillons a été réalisée sous un microscope optique.
- Mesure de l'absorbance : on a mesuré l'absorbance quotidiennement pour avoir une estimation de la concentration de la biomasse. Elle consiste en une lecture, à l'aide d'un spectrophotomètre, de la densité optique de la culture à une longueur d'onde de 550 nm.

5. Récolte

La spiruline cultivée a été récoltée après 3 semaines de culture soit le 24/05/2018. Filtrée, essorée et séchée à l'air libre, la biomasse obtenue est pesée à l'aide d'une balance électronique de précision (Figure 9).



Figure 9 : Filtration, essorage, et séchage.

Troisième partie

Résultats et discussion

1. Etudes de la culture

Nous avons observé le comportement de la spiruline et suivi le développement de la croissance pendant 3 semaines.

1.1. Evolution des paramètres physico-chimiques

La température et le pH des cultures de Spiruline ont été mesurés depuis sa mise en culture. Les valeurs enregistrées sont récapitulées dans le tableau suivant (Tableau 8):

Tableau 8 : Evolution de la température et du pH des cultures de Spiruline

Date	N de jour	Température ambiante	Matin		Après midi	
			T	pH	T	pH
06-05-2018	1	19	20.9	8.47	21.4	8.55
07-05-2018	2	20	20.5	8.67	21.2	8.44
08-05-2018	3	21	20.9	9.07	21.5	9.20
09-05-2018	4	21	20.5	9.33	21.2	9.35
10-05-2018	5	22	22.5	9.37	21.3	9.38
11-05-2018	6	//	//	//	//	//
12-05-2018	7	//	//	//	//	//
13-05-2018	8	22	21.7	9.53	21.7	9.55
14-05-2018	9	23	21.03	9.58	21.3	9.60
15-05-2018	10	20	21.4	9.61	21.6	9.61
16-05-2018	11	21	21.7	9.62	21.7	9.63
17-05-2018	12	21	21.8	9.63	22.01	9.65
18-05-2018	13	//	//	//	//	//
19-05-2018	14	//	//	//	//	//
20-05-2018	15	20	19.2	9.65	19.6	9.63
21-05-2018	16	21	19.8	9.60	21.04	9.58
22-05-2018	17	23	21	9.58	21.2	9.57
23-05-2018	18	24	21.03	9.56	21.7	9.56
24-05-2018	19	24	21	9.55	21.5	9.49

1.1.1. Température

La température moyenne ambiante était de 21.46 °C pendant la durée de l'expérimentation.

La température moyenne du récipient mesurer au matin était de 20,99°C, elle présente une différence de 0,5°C avec la température ambiante.

La température moyenne du récipient mesurer après midi était de 21,33 °C. Elle est quasiment identique avec la température ambiante (Tableau 8).

Discussions :

La spiruline est un micro-organisme thermophile à une température de croissance optimale de 37 à 40 °C, la température est une facteur qui est influence sur la croissance de la spiruline. La température était basse par rapport à l'optimum de 37°C pour la bonne croissance de la Spiruline, (Jourdan, 2006).

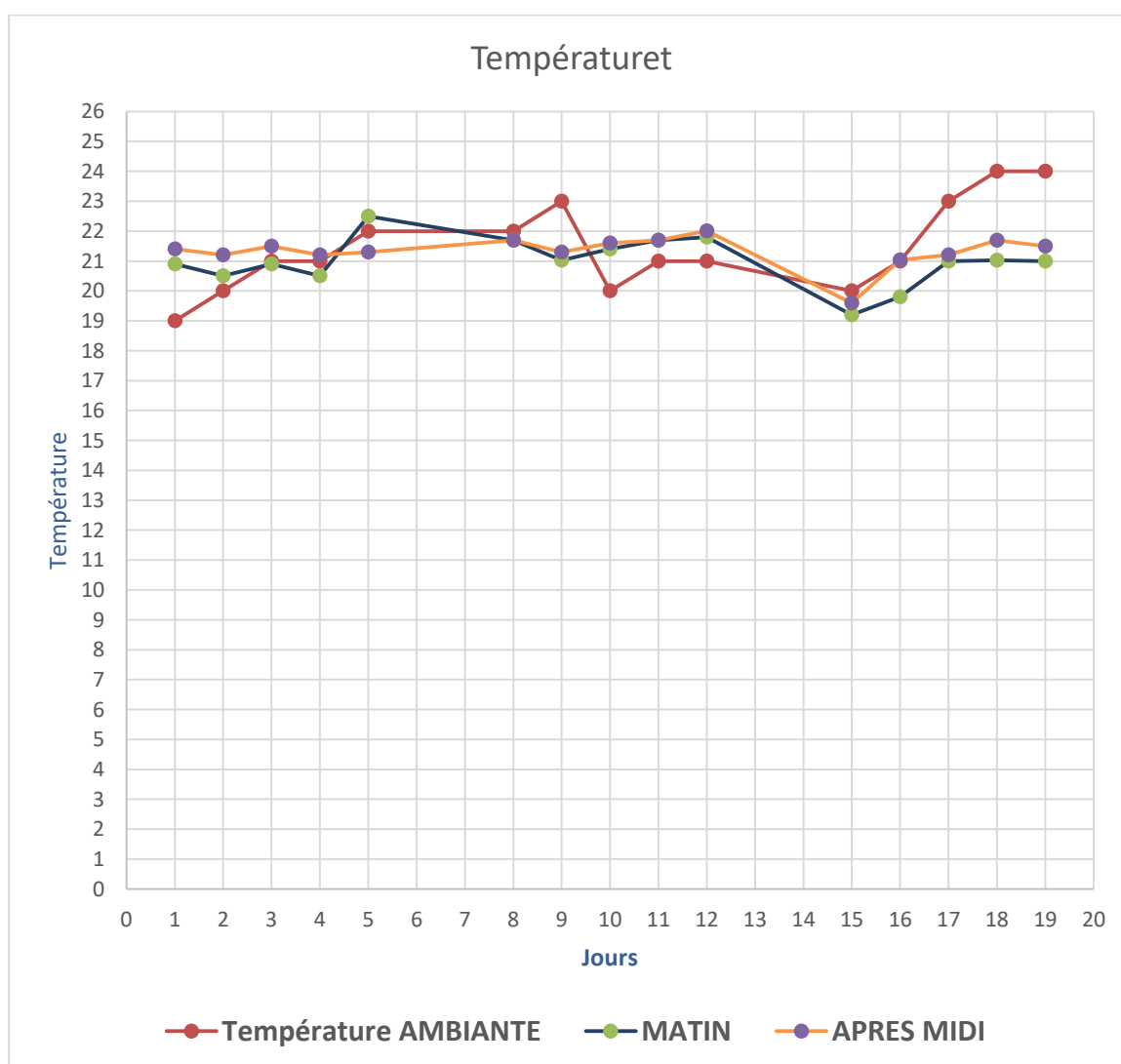


Figure 10: Evolution de la température dans les cultures de la Spiruline.

1.1.2. pH

La valeur moyenne du pH mesurer au matin était de 9,34 et de 9,38 pour le pH mesurer après midi (Tableau 8). Le pH est resté presque constant pour les 2 temps de mesure.

On observe une augmentation de la valeur du pH progressivement durant la durée de l'expérimentation avec des pics au 12eme Jusqu'au 15eme jour de culture (9,65), mais après le 15eme jour la valeur de pH est diminuée (Figure 11).

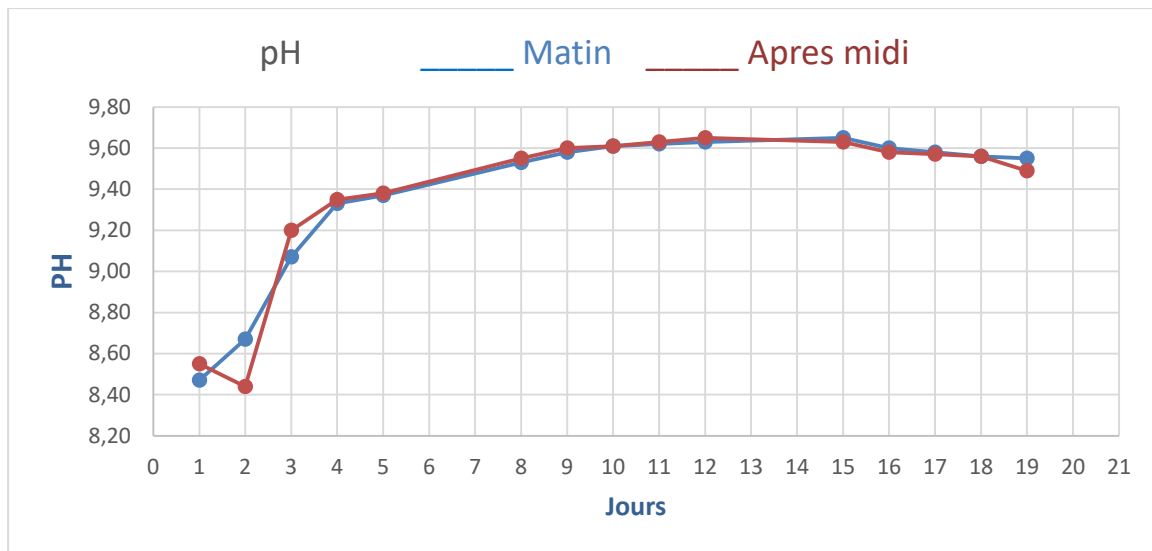


Figure 11: Evolution du pH dans les cultures de Spiruline.

Discussions :

Bien que la spiruline est un organisme vivant en milieu alcalin.

La détermination du pH peut être utilisée comme un indicateur de l'activité de Photosynthèse.

Lorsque le milieu contient bicarbonate de soude est la source d'alcalinité, il est donc augmentation du pH 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.

Le pH qui diminue peut être corrélée à la consommation de source de carbone c'est la nourriture principale de la spiruline. Et une inhibition de la photosynthèse (dépigmentation) ; cette inhibition induit à l'arrête de croissance de spiruline dans milieu l'abaissement du pH s'explique par l'absence des nitrates ou des phosphates dans le milieu, le manque de ces éléments induit à la formation des grumeaux jaunes qui explique l'inhibition de la photosynthèse des substances vertes (Fox, 1999).

1.2. Caractérisations de la spiruline

1.2.1. Etude morphologique

Une observation périodique au microscope optique nous a permis de surveiller la morphologie de la Spiruline tout le long de la période de culture. Les figures ci-dessous nous montrent la morphologie observée qui est des filaments de forme droite. (Figure 12).

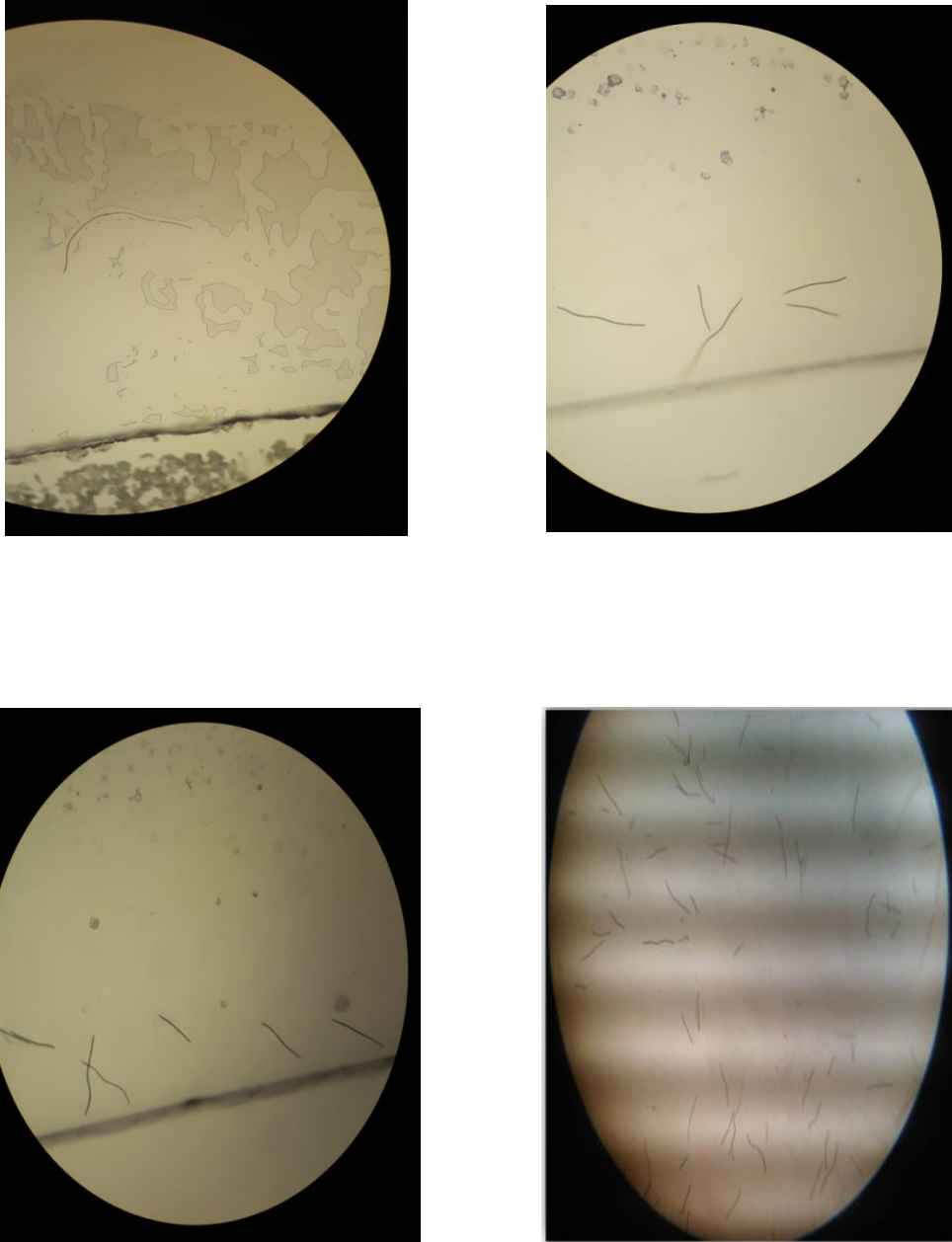


Figure 12 : Observation microscopique de la spiruline.

1.2.2. Etude de la croissance de la Spiruline et changement de couleur

Une observation directe montre que la culture est de couleur vert clair devient progressivement sombre (Figure13), avec une croissance assez lente.

Le niveau d'eau du récipient est diminué jusqu'à 14,5 cm

Discussions :

Même si l'alcalinité du milieu est favorable. Cette lente croissance est due principalement à la température du milieu. En effet la température optimale pour une multiplication rapide de la spiruline varie entre 37° à 40° et à 20° la croissance est pratiquement stoppée (Jourdan, 2006). Or les valeurs mesurés été largement inférieures à 37°C (Tableau 8). La croissance lente et un système d'agitation non adéquat ont fait que la récolte reste relativement faible.

La diminution du niveau d'eau dans le récipient est essentiellement due à la consommation propre de la spiruline à travers la photosynthèse et la photolyse de l'eau pour la production de matières organiques et oxygène.



5^{ème} jour



11^{ème} jour



15^{ème} jour



19^{ème} jour

Figure13 : changement de couleur de milieu de culture.

1.3. Evolution des paramètres biométrique

1.3.1. Evolution de la biomasse

Les valeurs des densités optiques enregistrées expliquent le développement de la spiruline comme le montre le tableau suivant (Tableau 9):

Tableau 9 : Evolutions des densités optiques des cultures de Spiruline.

Date	N de jour	Absorbance
07-05-2018	2	0.156
08-05-2018	3	0.163
09-05-2018	4	0.175
10-05-2018	5	0.225
11-05-2018	6	//
12-05-2018	7	//
13-05-2018	8	0.306
14-05-2018	9	0.395
15-05-2018	10	0.474
16-05-2018	11	0.512
17-05-2018	12	0.607
18-05-2018	13	//
19-05-2018	14	//
20-05-2018	15	0.802
21-05-2018	16	0.871
22-05-2018	17	0.962
23-05-2018	18	1.070
24-05-2018	19	1.340

Discussions

Une légère augmentation a été observée au début de la culture.

A partir du 8^{ème} jour, la Spiruline a montré une croissance importante et continue.

Le pic des valeurs était atteint à la fin de la culture (1.340) (Figure 14), et le milieu de culture était de couleur vert foncé (Figure 13) est due principalement à la température.

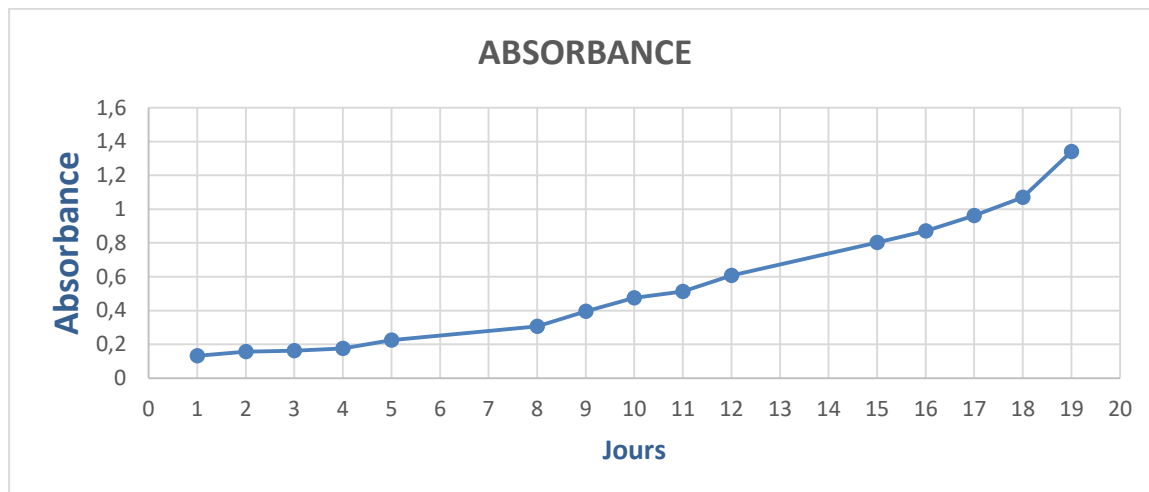


Figure 14 : Evolution de la densité optique.

2. Récolte

Une récolte a pu être réalisée à la fin de la période d'expérimentation c'est à dire après 3 semaines de culture. Le poids de la biomasse obtenue est de 1,89 g.

Conclusion générale

La spiruline est un aliment à hautes qualités nutritives grâce à la diversité et la richesse de ses constituants. Elle présente plusieurs activités biologiques.

L'étude même de courte durée mais nous a permis de constater les propriétés de cette algue bleue, d'après nos travaux nous pouvons dire ce qui suit :

-Pour une bonne vitesse de croissance de la spiruline il faut garder une T°C de milieu de culture supérieure à 37°C et inférieure à 40°C.

-La vitesse de croissance dépend de plusieurs facteurs dont le pH. Elle est maximum à pH inférieur à 10, donc on a intérêt à utiliser du bicarbonate pour démarrer rapidement une nouvelle culture. Le 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.

-La présence de lumière, une bonne agitation et un pH stable alcalin favorisent la croissance et la pigmentation.

Les résultats obtenus démontrent que la température est un facteur très important dans le développement de la spiruline même si le milieu est favorable et correctement alcalin ce qui s'est traduit par une faible production de la biomasse.

Les propriétés nutritionnelles de la spiruline en font une source alimentaire qui mérite une attention particulière dans nos pays en développement où se pose avec acuité un problème de disponibilités alimentaires.

Liste des figures

- ❖ **Fig1 (P N°05)** : Zone de croissance naturelle de la Spiruline dans le monde (**Fox, 1999**).
- ❖ **Fig2 (P N°07)** : Morphologies typiques de la spiruline (**Charpy et al., 2008**).
- ❖ **Fig3 (P N°08)** : Morphologies typiques de la spiruline (**Source : Antenna Technologie modifiée**).
- ❖ **Fig4 (P N°09)** : Cycle biologique de la Spiruline selon (**Balloni et al. 1980 in Charpy, 2008**).
- ❖ **Fig5 (P N°24)** : Spirulines "étripées" vues au microscope (**JOURDAN, 1999**).
- ❖ **Fig6 (P N°31)** : Production mondiale de Spiruline entre 1975 et 1999 en tons (1 tons = 1,016 tonnes) (**Pulz et al. 2004**)
- ❖ **Fig7 (P N°36)** : Dispositif expérimental
- ❖ **Fig8 (P N°38)** : Agitation de récipient.
- ❖ **Fig9 (P N°39)** : Filtration, essorage, et séchage.
- ❖ **Fig10 (P N°42)** : Evolution de la température dans les cultures de la Spiruline.
- ❖ **Fig11 (P N°43)** : Evolution du pH dans les cultures de Spiruline.
- ❖ **Fig12 (P N°44)** : Examen microscopique des filaments de la spiruline.
- ❖ **Fig13 (P N°45)** : Changement de couleur de milieu de culture.
- ❖ **Fig14 (P N°47)** : Evolution de la densité optique.

Liste des tableaux

- ❖ **Tab1 (P N°06)** : Sites géographique où pousse naturellement la spiruline (Fox, 1999).
- ❖ **Tab2 (P N°10)** : Les moyennes observées des éléments toxiques (Falquet, 2006).
- ❖ **Tab3 (P N°16)** : Teneur en vitamines (Falquet, 1996).
- ❖ **Tab4 (P N°16)** : Teneur en minéraux (Falquet, 1996).
- ❖ **Tab5 (P N°17)** : Composition chimique en pigments dans la Spiruline(Arthrospira) (Belay, 1997).
- ❖ **Tab6 (P N°19)** : Analyse d'un milieu de culture typique (FOX, 1999).
- ❖ **Tab7 (P N°37)** : Composition chimique du milieu de culture Hiri .
- ❖ **Tab8 (P N°41)** : Evolution de la température et du pH des cultures de Spiruline.
- ❖ **Tab9 (P N°46)** : Evolutions des densités optiques des cultures de Spiruline

Références bibliographiques

- ✓ **Antenna Technologies, 2007.** Malnutrition. Spiruline: quelques bases scientifiques. Disponible sur: <http://www.antenna.ch/documents/biologie.pdf>
- ✓ **Anusuya, D.M. et Venkatarman, L.V. (1983).** Supplementary value of the proteins of the bluegreen
- ✓ **Aychunie, S. (1996).** Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *International Association of Applied Algology*, 7th International Conference.
- ✓ **Ballinger AB, Clark ML. (1994).** L-phenylalanine releases cholecystokinin (CCK) and is associated with reduced food intake in humans: evidence for a physiological role of CCK in control of eating. *Metabolism*; 43:735–738.
- ✓ **Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC (1980)** Biologia fondamentale del genere *Spirulina*. In: Materassi R (ed) *Prospettive della Coltura Massiva di Spirulina in Italia*. CNR Rome, pp 49–85
- ✓ **Belay A, Ota Y. (1996).** Production of high quality spirulina at Earthrise Farms. In: *Proc. of Second Asia Pacific Conférence on Algal Biotech*. Univ. of Malaysia USA.
- ✓ *Biochem Nutrition*. Vol. 10:145-151.
- ✓ **Bories G. et Tulliez J. (1975).** Détermination du 3,4-benzopyrène dans les algues spirulines produites et traitées suivant différents procédés *Ann. Nutr. Aliment.* 29, 573-575.
- ✓ **Boudène C, Collas E, Jenkins C. 1975.** Recherche et dosage de divers toxiques minéraux dans les algues spirulines de différentes origines, et évaluation de la toxicité à long terme chez le rat d'un lot d'algues spirulines de provenance mexicaine. *Ann.Nutr.Aliment.* P29, 87
- ✓ **Bujard, E., Braco, U., Mauron, J., Mottu, F., Nabholz, A., Wuhrmann, J.J. et Clément G. (1970).** Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (*Spirulina*) and their Possible Use in Food Formulations. *3rd.international Congress of Food Science and Technology, Washington* .
- ✓ **Castenholz RW., Rippka R., Herdman M., Wilmotte A. (2001).** “Form-genus I. *Arthrospira* Stizenberger 1852”. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds.) 1: 542-543.
- ✓ **Challem, J.J., Passwater, R.A. et Mindell, E.M. (1981).** *Spirulina*. Keats Publishing. Inc. New Canaan, Connecticut.
- ✓ **Chamorro-Cevallos G. 1980.** Toxicologic Research on the Alga *Spirulina*. United Nations Organisation for Industrial Development

- ✓ **Charpy L., Langlade M. J., Alliod R. (2008).** “La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique?”. Institut de Recherche pour le Développement. Marseille. Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. 49 p.
- ✓ **Ciferri, O. (1983).** *Spirulina*, the Edible Microorganism. *Microbial. Rev.* Vol. 47:551-578.
- ✓ **Clément, G. (1975).** Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *Spirulina maxima*. *Ann. Nutr. Aliment.* Vol. 29 : 477-487.
- ✓ **Clément, G., Giddey, C. et Menzi, R. (1967).** Amino Acid Composition and Nutritive Value of the Alga *Spirulina maxima*. *J. Sci. Fd. Agric.* Vol. 18: 497-501.
- ✓ **Cohen Z. (1997).** Chemicals from Spirulina in "Spirulina platensis: Physiology, cell-biology and biotechnology". Ed. A. Vonshak, Taylor & Francis Ltd.
- ✓ **CRUCHOT Hélène. 2008.** la spiruline bilan et perspectives; facute de medecine et de pharmacie de besancon .P 5, 9,18, 23,69, 180,183.
- ✓ **Delpeuch F. 1976.** Consumption as food and nutritional composition of blue-green algae among populations in the Kanem region of Chad. *Ann.Nutr. Ali ment.* P29, 45.
- ✓ **Delpeuch F., Joseph A. et Cavelier C. (1975).** Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoris platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad). *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*; **29**: p. 497-515.
- ✓ **Donon M.B. (1998).** “Tchad 1998”. Editions L'Harmattan, 45p. Tchad.
- ✓ **Doumenge F, Durand-Chastel H, Toulemont A. 1993.** Spiruline, algue de vie! *Spirulina*, algae of life. Bulletin de l'institut Océanographique de Monaco. Monaco: Musée Océanographique. P 36, 37
- ✓ **Durand J. R., Lévêque C. (1980).** “Flore et faune aquatiques de l'Afrique sahélosoudanienne”. Volume 1. IRD édition. 60p. Paris.
- ✓ **Falquet J. et Hurni J-P. (2006).** Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologies
- ✓ **Falquet, J. (1996).** Spiruline : aspects nutritionnels. *Antenna Technologie.* Vol. 29, r.
- ✓ **Farrar, W.V. (1966).** Techuitlatl, a Glimpse of Aztec Food Technology. *Nature.* N° 5047.
- ✓ **Fedkovik, Y., Astre, C., Pinguet, F., Gerber, M., Ychou, M. et Piujo, H. (1993).** Spiruline et cancer. *Spiruline, algue de vie* ; bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco N° spécial 12 – Monaco, Musée océanographique. p. 117-119.
- ✓ **Fox, R. D. (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. Edisud: 246. ISBN 2-7449-0100-8.
- ✓ **Geitler L. (1932).** “Cyanophyceae. In : Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz”. Leipzig Germany: Ed. 2. Volume:14: 673-1196,
- ✓ **Girardin-Andréani C. (2005).** Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytothérapie*; **4**: p. 158-161.
- ✓ **Gustafson, K. (1989).** AIDS- Antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae).

- ✓ **Guyton, A.C. (1986).** Textbook of Medical Physiology. 7th. ed. W.B. Saunders Company.
- ✓ **Harriman, G.R., Smith, P.D., Horne, M.K., Fox, C.H., Koenig, S., Lack, E.E., Lane, H.C., Hayashi T., Hayashi, K. (1996).** Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina*. *Journal of Natural Products*. Vol. 59(1) :83-87. <http://pagespersoorange.fr/cyanobacteries/pages/Introduction/definition.htm> 2006
- ✓ **Hudson, B.J.F. et Karis, I.G. (1974).** The Lipids of the Alga *Spirulina*. *J. Sci. Fd. Agric.* Vol. 25:759-763.
- ✓ **Johnson, P. et Shubert, E. (1986).** Availability of iron to rats from *Spirulina*, blue-green algae. *Nutrition Research*. Vol. 6: 85-94.
- ✓ **Jourdan, (2006).** Manuel de culture artisanale de spiruline. Edition 2006, Révision mars 2013
- ✓ *Journal of the National Cancer Institute*. Vol. 81(16):1254.
- ✓ **König C.** Les algues : première lignée végétale. Disponible sur : <http://www.futura-sciences.com/planète/dossiers/botanique-algues-vegetaux-aquatiques-523/> publié en 2005 modifié en 2015.
- ✓ **Lamela, T. et Marquez, F.J. (2000).** Phycocyanin production in seawater culture of *Arthrospira maxima*. *Ciencias marinas*. Vol. 26(4) :607-619. **Annapurna, V. (1991).** Bioavailability of *Spirulina* carotenes in preschool children. *J. Clin.*
- ✓ **Legard E. (2005).** ‘Force: entraînement & musculation’. Editions Amphora, 194p. France.
- ✓ **Léonard, J. (1968).** Discovery, ecology and nutritional utilization of *Spirulina platensis*. Communication à la réunion du Swedish. Council for Applied Research, Stockholm, 11.
- ✓ **Merdan Ngattai-Lam. (2009).** ‘Étude des projets d’investissement en Afrique Centrale : 24 études de cas’. Editions L’Harmattan, 267p. Paris.
- ✓ **Muhling M, Harris N., Belay A. and Whitton BA. (2003).** ‘Reversal of helix orientation in the cyanobacterium *Arthrospira*’. *Journal of Phycology*. 39: 360-367. Neuchâtel CH-1201 Genève, Suisse. P. 1-16.
- ✓ **Palla, J.C. et Busson, F. (1969).** Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler (Cyanophycées). *C.R. Acad. Sc. Paris*, t.269. p. 1704-1707
- ✓ **Pang, Q. S., Guo, B. J. et Ruan, J. H. (1988).** Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*. *I-Chuan-Hsueh-Pao* Vol. 15(5) :374-381.
- ✓ **Paniagua-michel J., Dujardin E. et Sironval C. (1993).** Le Tecuitlal, concentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques. *Cahiers de l’Agriculture*; **2**: p. 283-287.
- ✓ **Pulz O., Gross W. (2004).** Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*.

- ✓ **Qishen, P. et Kolman, I. (1989).** Radioprotective effect of extract from *Spirulina* in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test. *Toxicology Letters*. Vol. 48 :165-169.
- ✓ **Quillet, M. (1975).** Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. *Ann. Nutr. Aliment*. Vol. 29:553-561.
- ✓ **Roger P.A. (2006)** Les cyanobactéries : définition. Disponible sur :
- ✓ **Rule, S.A., Hooker, M., Costello, C., Luck, W. et Hoffbrand, A.V. (1994).** Serum vitamin B12 and transcobalamin levels in early HIV disease. *Am-J-Hematol*. Vol. 47(3) : 167-71.
- ✓ **Sall, M.G., Dankoko, B., Badiane, M., Ehua, E. et Kuakuwi, N. (1999).** La spiruline : une source alimentaire à promouvoir. *Médecine d'Afrique Noire*. Vol. 46 (3): 140-141.
- ✓ **Santillan, C. (1974).** Cultivation of the *Spirulina* for Human Consumption and for Animal Feed. International Congress of Food Science and Technology. Madrid (Spain).
- ✓ **Santillan, C. (1974).** Cultivation of the *Spirulina* for Human Consumption and for Animal Feed. *International Congress of Food Science and Technology*. Madrid (Spain).
- ✓ **Scheldeman P, Baurain D, Bouhy R, Scott M, Belay A, Wilmotte A. et al.** Arthrospira (*Spirulina*) strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer
- ✓ **Schwartz, J. et Shklar, G. (1987).** Regression of experimental hamster cancer by beta-carotene and algae extracts. *J. Oral. Maxillofac. Surg*. Vol. 45(6): 510-5
- ✓ **Schwartz, J. et Shklar, G. (1988).** Prevention of experimental oral cancer by extracts of *Spirulina- dunaliella* algae. *Nutr Cancer*. Vol. 11:127-134 ..
- ✓ **Trzebiatowska J, Lipok J, Zastawniak K, Mlynarz P and P. Kafarski (2004)** Glyphosate degradation by *Spirulina* sp.
- ✓ **Tulliez J, Boreis G, Février C, Boudène C. (1975).** Les hydrocarbures des algues spirulines : nature, étude du devenir de l'heptadécane chez le rat et le porc. *Ann.Nutr.Aliment*; 29: 563 - 71.
- ✓ **Yang, Lee EH, Kim HM. (1997).** *Spirulina platensis* inhibits anaphylactic réaction. *Life Sci*; 61 (13): 1237-44.
- ✓ **Zarrouk C., (1966),** Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Thèse de doctorat, Paris.
- ✓

Résumé :

La production de la spiruline

Spiruline est situé sur la face de la terre depuis les temps anciens pousse naturellement dans les lacs salés et basale.

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié la production de spiruline au niveau de laboratoire avec le suivi de l'évolution de la croissance pendant 3 semaines, où nous prenons en compte les facteurs climatiques et physicochimiques qui affectent directement leur croissance.

Malgré les différents facteurs climatiques particulièrement la température, nous prenant évolution naturelle et la croissance de cette algue. Là où nous étions en mesure d'obtenir une biomasse de 01,89 g.

Enfin, nous concluons que la spiruline a le potentiel de croître malgré différents facteurs climatiques si nous fournissons le milieu de culture approprié tel que le carbonate de sodium, l'eau et d'autres produits chimiques qui fournissent leurs conditions de sa croissance.

- **Mots clés:** spiruline, production, milieu de culture, la température, éléments chimiques, biomasses

Abstract :

The production of spirulina

Spirulina is located on the face of the earth since ancient times grows naturally in salty and basal lakes.

As part of our work, we studied the production of spirulina at the laboratory level with the monitoring of the evolution of the growth during 03 weeks, where we take into account the climatic and physicochemical factors which directly affect their growth.

Despite the different climatic factors especially the temperature, we taking natural evolution and growth of this seaweed. Where we were able to get a biomass of 01.89 g.

Finally, we conclude that Spirulina has the potential to grow despite the different climatic factors if we provide them with the appropriate culture medium such as sodium carbonate and water and other chemical elements that provide them with the conditions of his growth.

- **Key words:** spirulina, production, culture medium, temperature, chemical elements, biomass.

ملخص :

إنتاج سبيرولينا

سبيرولينا هو طحلب أخضر يوجد على وجه الأرض منذ القدم ينمو بشكل طبيعي في البحيرات المالحة والقاعدية.

كجزء من عملنا ، قمنا بدراسة إنتاج السبيرولينا على مستوى المختبر مع مراقبة تطور النمو خلال 3 أسابيع ، حيث أخذنا بعين الاعتبار العوامل المناخية والفيزيوكيميائية التي تؤثر بشكل مباشر على نموه.

على الرغم من العوامل المناخية المختلفة وخاصةً درجة الحرارة ، إلا أنه كان هناك تطور طبيعي ونمو هذه الطحلب. حيث أننا حصلنا على كتلة حيوية وزنها 01.89 غ.

في الأخير، فإننا نستنتج أن سبيرولينا لديه القدرة على النمو على الرغم من عوامل مناخية مختلفة إذا وفرنا الوسط الزراعي المناسب وقاعدة من كربونات الصوديوم والماء والمواد الكيميائية الأخرى التي توفر ظروف نموها.

- **الكلمات المفتاحية:** سبيرولينا ، الإنتاج ، وسط الزرع ، درجة الحرارة ، العناصر الكيميائية، الكتلة الحيوية.