

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences écologiques

Option : Écologie Végétale et Environnement

THEME

**Production *in-vitro* et caractérisation physico-chimique
et biochimique de la spiruline (*Arthrospira platensis*)**

Présenté par :

- ❖ Benaya Lalia
- ❖ Boukhad Aoulia

Devant le jury :

Président(e) : Hicham Gouzi	(Pr. Univ-Laghouat)
Examineur : zerrouki Mohamed Hussein	(MAA. Univ-Laghouat)
Rapporteur : Chaibi Rachid	(MCA. Univ-Laghouat)

Année universitaire 2018/2019- session juin

Remerciement

Nous remercions tout DIEU puissant qui nous a données la force et patience pour mener à bien travail.

*Nos remerciements s'adressent à nos encadreurs, Mr **Chaibi Rachid**"*

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail et pour leurs conseils judicieux,

*Nous remercions s'incèrent les membre de jury :Mr **Gouzi Hicham** Et*

***Pr Abd sselam Amira** pour avoir accepté de présider et de d'examiner notre jury*

*Mr **Mourad Biada**, chef de la station de pêche de Laghouat, pour son aide et ses conseils.*

*Mr **Anouar Radouane**, directeur du département de la spiruline en Algérie dans le Wilayat d'Oran, pour nous avoir présenté une quantité de spiruline et sa confiance en nous.*

*Mr **Gouzi Hicham** de fournir une assistance, notamment au laboratoire,*

*Au professeur **Bouazara Houria** pour Vous aider dans notre travail*

Je tiens à exprimer nos sincères remerciements pour avoir évalué ce bon travail et en avoir assuré le succès.

Un grand Merci à toutes les personnes qui ont contribué à des degrés divers à réalisation de nôtre travail notamment le personnel du laboratoire du département de biologie MERCI a tous.

Dedicaces

A ma Mère:

« Tu m'a donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te port.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier

Pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée »

A mon Père:

« Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le

Dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au

Monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et

Mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as

Consentis pour mon éducation et ma formation. »

A mes chers frères Karim et Imad el din , Merci pour encouragement et vos conseils

A ma très chère sœur fatna et son mari et son enfants Reugia ,El almi,Nour El iman, sid Ahmed

Ma chère soeur Nacira, qui m'a accompagné toute l'année, m'a aidée à mener à bien

ce projet jusqu'à son achèvement. Surtout quand elle m'a accompagnée et m'a

encouragée financièrement et inquiète. Merci, sœur, pour vos efforts

À mon binome Boukhad Aoulia pour avoir travaillé sur tout ce que nous avons

accompli pour notre travail et m'a aidé tout au long de l'année.

Merci pour votre respect.

A mes chères amies, Khawala.N, Hadjira , Fatoum, Souad

A ma famille..., et à tous qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

A Tous Les Enseignants qui nous ont suivis et soutenues, dirigées

pendant toutes la durée de mes études universitaires.

Benaya Lalia



Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,

Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie cette Thèse....



À mes chers parents : Boukhad Nacuer et Amina


Vous parlez beaucoup de phrases parce qu'elles ne peuvent pas vous montrer combien d'amour et de gentillesse je ressens pour vous.

. J'ai instillé en moi un sens des responsabilités, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils et vos encouragements me conduisent toujours à mes pas vers le succès.

Je vous dis ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain, et je ferai toujours de mon mieux pour vous rendre fier de moi et je ne vous décevrai jamais.

Dieu vous protège et vous donne la santé, le bonheur et la tranquillité d'esprit et vous protège du mal.

Boukhada Aoufia



✉ *A ma très chère sœur Marya et leur petite famille, Ahmad -Saïf el daïne et Abd el jalil*

Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.

Puisse Dieu vous garder, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

✉ *À mes chers frères Saad - Nasr el ddin - Oussama - Abdelkader*

Merci pour la confiance que vous avez partagé avec moi et vos encouragements à moi.


✉ *À mes chers amies : Ouadah Khaoula - Abdi Hajira - Bouzaini Souad - Ben gachia Fatoum - Saï Chaima*

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

✉ *Cher ami Ben aya Lalia*

Je vous remercie pour votre amitié et pour vos efforts dans ce travail, je vous souhaite une vie heureuse et un succès tout au long de votre vie.



Sommaire

Remerciement.....	I
Dédicaces.....	II
Table de matières.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures	V
Liste des abréviations.....	VI

Chapitre I : Recueil bibliographique

Généralité de la spiruline

Introduction.....	1
1/Définition de la spiruline.....	3
2/Historique.....	3
3/Taxonomie.....	4
4/Morphologie	5
5/ Cycle biologique et mode reproduction	5
6/ Déplacement.....	6
7/Écologie et habitat	7
7.1 / les facture de milieu	8
8 / Culture et domaine d'utilisation de la spiruline	8
8.1 / Le milieu de culture	8
8.2 / Milieu de Jourdan	9
8.3 / Les différents modes de production de spiruline	9

8.3.1/ Production artisanale	9
8.3.2 / Production semi-industrielle	10
8.3.3 / Production industrielle	11
9 / Utilisation et les bienfaits de la spiruline	11
10 / Composition biochimique de la spiruline	12
11 / Toxicité	14
12/Importance écologique de la spiruline.....	14
12.1/La spiruline contre la pollution	14
12.2/La Spiruline est un grand pourvoyeur d'oxygène.....	14
13/ Importance économique de la spiruline.....	14
13.1/Protection du sol.....	14
13.1/Protection d'eau.....	14

Partie expérimentale

Chapitre II : Matériels et Méthode

1/ Choix et intérêt du microorganisme	15
2/ L'origine de la souche	15
3/Station d'étude.....	15
4/ Méthodologie	16
5/La qualité de l'eau utilisée.....	16
6/Matériel utilisé.....	16
6.1 Installation de l'aquarium.....	16
6.2/Matériel de laboratoire.....	17
6.3/ les produits chimique.....	17
7/Conditions expérimentales	18

7.1 /l'étape initiale.....	18
7.1 /l'étape finale.....	19
8 /Préparation de milieu de culture.....	19
8.1/Ensemencement.....	20
8.2/Condition de culture.....	21
8.2.1 / Agitation.....	21
8.2.2 / Éclairage.....	21
8.2.3 Évolution du développement de la spiruline	22
8.2.3.1 Suivi de l'évolution des paramètres physico-chimiques.....	22
8.3/Récoltes et filtration	22
8.4 /Séchage.....	23
9/Valorisation de la spiruline produite.....	24
9.1/Le principe	24
9.2/ Mode opératoire.....	24
9.2.1/ Minéralisation.....	24
9.2.2 /Distillation.....	25
9.2.3 / Titration.....	27
9.2.4/ Expression des résultats.....	27
9.2.5 /Conversion du taux d'azote en taux de protéines.....	27
10. dosage de glucides total	28
10.1/Principe	28
11.2/Mode opératoire	28

Partie Résultats et discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

1/Résultats de la phase initiale	30
2/Résultats de la phase finale	30
2.1/Évolution des paramètres physico-chimiques	30
2.1.1 /La température	32
2.1.2/ Le potentiel Hydrogène (pH) :	33
3/ Caractérisations de la spiruline	34
3.1/ Étude morphologique et changement de couleur	34
3.2/Estimation de la biomasse produite	35
4/Résultats de l'analyse biochimique	36
4.1/ Teneur en protéines.....	36
4.2/Teneur en glucides	36
Conclusion et perspectives	37
Références bibliographique	
Résumé	

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
1	postions systématique de la spiruline selon Fox 1999	4
2	Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa, 2005)	5
3	Les zones et les biotopes de la spiruline .	7
4	les facteurs essentiels du milieu de la culture de la spiruline	8
5	les compositions chimiques d'un milieu de culture typique Jourdan 2007	9
6	le rôle et la tenure de composition nutritionnelle dans la spiruline	12
7	Composition minérale dans la spiruline	13
8	Résultats d'analyse d'eau forage 31/01/2019	16
9	Composition chimique du milieu de culture de Jourdan	19
10	Composition chimique du milieu de culture et préparation de la spiruline	20
11	les étapes de l'ensemencement	21
12	Évolution de la température et du pH des cultures de Spiruline	31
13	Les résultats des mesures de la température et du pH durant la récolte de la biomasse	35
14	Estimation de la biomasse sèche de la spiruline	35

Figure N°	Titres	Pages
1	Spiruline forme droite vue au microscope optique	3
2	Cycle biologique de la Spiruline (Ciferri et al, 1983)	6
3	Zone de croissance naturelle de la Spiruline dans le monde (Fox, 1999)	7
4	Production artisanale	10
5	Production semi-industrielle	10
6	Production industrielle	11
7	comparaison du taux de protéines de différents aliments	13
8	présentation du zone d'étude	15
9	Préparation de l'aquarium et restauration des conditions expérimentales	16
10	photo des principaux matériaux utilisés au laboratoire pendant notre expérimentation	17
11	les produits chimiques utilisés dans la préparation de Milieu de culture de Jourdan	17
12	installation de l'aquarium	18
13	la mise en préparation (stimulation) de la souche à partir du 01/02/2019	18
14	mise du culture de la spiruline dans le milieu Jourdan	19
15	Les différentes étapes de préparation de milieu de culture	20
16	photo représente l'application de l'agitation automatique	21
17	installation un source lumineuse	22
18	les étapes de récolte et filtration de la biomasse de spiruline (originale)	23
19	Poudre de spiruline originale	24
20	les produits chimique qui utilisé dans le dosage de protéine	25
21	Les différentes étapes de la minéralisation	25
22	préparation de de la soude caustique (NaOH) et L'acide borique H3BO	26

Liste des figures

23	étapes finale de minéralisation pour ajoute le mélange de l'eau distillée et (NaOH)	26
24	étapes de distillateur	26
25	Étapes finale : Titrage de l'ammoniac	27
26	Acidification de la spiruline par l'acide sulfurique et étuvage	28
27	Lecture par le spectrophotomètre	29
28	Résultat de la phase initiale a compté de 03/02/2019	30
29	Évolution de la température <i>in-vitro</i> durant le mois de mars	32
30	Évolution de la température <i>in-vitro</i> durant le mois d'Avril	32
31	Variations des valeurs de mesures du pH pendant le mois de mars	32
32	Variations des valeurs de mesures du pH pendant le mois d'avril	33
33	Observation macroscopique (œil nue) des différents aspects morphologiques couleur et la quantité de la spiruline (photo originale)	34
34	la forme et la taille de la spiruline observée au microscope optique (ObjectifX40)	34
35	Chronologie de l'évolution de la biomasse de la spiruline	35
36	Taux de protéine de notre spiruline en comparaison avec les autres aliments	36

Liste des abréviations

FAO	Food and Agriculture Organisation
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
FISE	Fonds International de Secours de l'Enfance
ONG	organisation non gouvernementale
°C	Degré Celsius
mm	Millimètre
µm	Micromètre
pH	pH-mètre
g/l	Gramme par litre
NaHCO ₃	bicarbonate de sodium
Mg	Magnésium
Ca	Calcium
%	Prévalence exprimée par pourcentage
L	Litre
ml	Millilitre
CE	Conductivité électrique
M	Moule
Cm	Centimètre
µg/ml	Micro gramme par Millimètre

Introduction

Introduction

L'accroissement démographique et la production alimentaire soulève des problèmes de jour en jour plus alarmants. De fait, la faim et la malnutrition existent dans de nombreux pays du monde. La malnutrition peut être le résultat combiné d'un manque énergétique (glucides, lipides et de protéines).

Beaucoup de pays en voie de développement souffrent de malnutrition par manque de protéines. Des organismes internationaux concernés par ces problèmes, tels la **FAO** (Food and Agriculture Organisation), **l'OMS** (Organisation Mondiale de la Santé), le **FISE** (Fonds International de Secours de l'Enfance), ont recommandé aux chercheurs du monde entier de réexaminer les potentiels alimentaires de l'humanité dans ses sources semi conventionnelles et non conventionnelles.

En fait, pour accroître les ressources alimentaires de l'humanité, il faudrait s'intéresser aux sources non conventionnelles, c'est à dire, à celles qui n'ont pas été ou peu exploitées jusqu'ici. Dans ce sens, de nombreuses recherches qui ont été orientées vers la découverte de nouvelles ressources énergétiques. Parmi les ressources les plus recommandées et plus rentable celles de la culture des micros algues, comme le cas de la spiruline ; c'est une cyanobactérie, et qui depuis longtemps retenu l'attention des chercheurs comme sources de protéines (**Kihlberg, 1972 in Rao, 1981**).

La spiruline *Arthrospira plantensis* est une algue bleue, elle présente un intérêt scientifique pour ses qualités nutritionnelles 70% de protéines ; elle riche en sels minéraux ; en oligo-éléments et en nombreuses vitamines (B1, B2, B12 E) (**Sall et al, 1999**). Ainsi son intérêt phytothérapeutiques n'est pas négligeable (**Falquet, 1996**).

Les agronomes les biologistes et économistes s'accordent, à partir des programmes de recherche et des actions entreprises sous toutes les formes (Forum des Institutions internationales, Plans de Développement des Gouvernements, Actions des ONG,...) dans le monde, pour chercher et trouver des réponses à la problématique du bien-être de l'Homme sur la terre.

La production de la spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle.

La spiruline fait l'objet d'un développement de cultures dans les régions où elle vit naturellement ; en Afrique, Asie et Amérique mais également dans des fermes spécialement conçues pour sa production à l'échelle industrielle. En Europe elle est produitesous serres ou en photo bioréacteurs (**JOURDAN, 2000**).

Actuellement, le marché de la spiruline est dominé par plusieurs pays, dont la France, la Chine, Cuba, Inde, Japon, Thaïlande, Vitamine, USA sont le monopole. On cite à titre d'exemple, la France Avec l'association de l'institut français du pétrole, une production de 2 tonnes par jour.

Dans ce contexte vient notre travail pour répondre aux questions suivantes :

- Possibilité de réaliser la production de la spiruline par l'installation *in-vitro* d'une ferme aquacole avec bien sur la détermination des facteurs physico chimique et le milieu de culture adéquat.
- De tester la valeur énergétique de cette spiruline produite dans des conditions *in-vitro*.

Notre mémoire est organisé en trois principaux chapitres, le premier concerne un **recueil bibliographique** qui décrit l'historique, la description de l'espèce *Spiruline*, son domaine d'utilisation, les différents modes de production et leur toxicité. Le deuxième chapitre **matériel et méthodes**, consacré aux différentes méthodes et techniques utilisées. Alors, le dernier chapitre qui traite tous les **résultats** et leurs discussions avec bien sur une conclusion et des perspectives.

Chapitre I: Recueil bibliographique

Généralités sur la spiruline

1/Définition

Depuis des siècles, les algues constituent une part importante de l'alimentation de nombreuses cultures. Aujourd'hui, elles occupent une place centrale dans l'industrie agroalimentaire. Les algues sont des végétaux simples, le plus souvent unicellulaires, dont la taille est si petite que, dans bien des cas, on ne peut les voir qu'au microscope. La grande majorité d'entre elles sont vertes car elles contiennent une concentration importante d'un pigment vert nommé chlorophylle (FELDMANN, 1966).

La spiruline est une micro-algue de la classe des cyanobactéries, uni ou multicellulaire et filamentaire. C'est une bactérie grâce à sa structure procaryote qui possède une membrane pluristratifiée de 4 couches. Son nom dérive de la configuration physique spiralée et hélicoïdale de ses filaments, en latin *spira* signifie enroulement. Les filaments prennent une forme hélicoïdale uniquement quand l'environnement est favorable (liquide ou milieu de culture). D'une longueur moyenne d'environ (0,25 mm ou 0,3 mm), elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 mm de diamètre enroulés en spirale. Pour se développer, la spiruline a besoin d'éléments nutritifs simples tels l'eau, les sels minéraux, le gaz carbonique et l'oxygène. Elle puise directement dans son milieu tout en utilisant la lumière solaire comme source d'énergie grâce à son système pigmentaire. Ce mode de synthèse de biomasse s'intitule la photo autotrophie. (DEREVIERS, 2003).

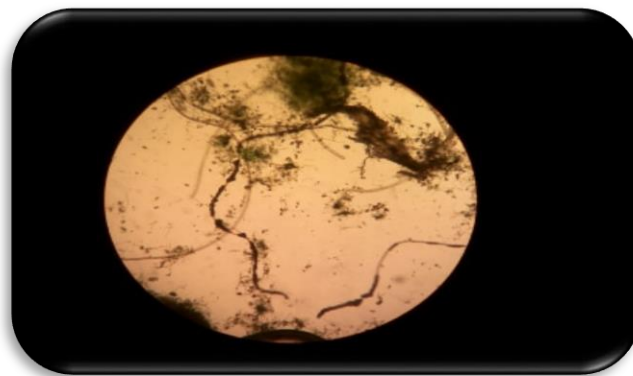


Figure 01 : Spiruline forme ondulée vue au microscope optique (Objective X40) originale

2/ Historique

La spiruline est une algue extrêmement ancienne, puis qu'elle aurait été présente à l'origine de la vie sur la terre, elle a su se défendre contre toutes les agressions et traverser les siècles et les bouleversements climatiques les Aztèques et les Incas furent parmi les premiers

à cultiver cette algue bleu-vert. La spiruline se développe à l'état naturel dans les lacs andins d'origine volcanique, ainsi que dans le lac Texaco au Mexique, Cependant elle pousse aussi en Afrique dans de grands lacs, en particulier au Tchad, Aujourd'hui l'engouement pour cette micro-algue et l'augmentation de sa demande, à clairement développé sa culture à travers le monde. Des recherches en Afrique du sud ont permis la découverte de fossiles de cyanobactéries datant de 3,5 milliards d'années (**Durand-Chastel, 1993**).

3/ Taxonomie

La spiruline c'est une micro algue de la classe des cyanobactéries. Il existe deux espèces principales de spiruline, la spiruline maxima, qui provient du Mexique la spiruline platensis du Tchad.

La spiruline platensis : se caractérise par des trichomes atteignant 350µm de long et entre 6 et 12,45 µm de diamètre ; ils sont un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spires ont un diamètre de 20 µm à 50 µm diminuant légèrement vers les extrémités. (**Cruchot, 2008**).

La spiruline 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 des trichomes mesurent entre 5 à 7 µm de long et ne rétrécissent pas au niveau des articulations (**Cruchot, 2008**).

Voici la classification taxonomique de la spiruline selon Fox :

Tableau 1 : Postions systématique de la spiruline selon Fox 1999




Règne	Monera ou Bacteria
Sous-règne	Prokaryota
Phylum ou Division	Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	<i>Arthrospira</i>
Espèce	<i>Arthrospiraplatensis</i>

4/Morphologie

La Spiruline est une cyanophycée microscopique d'une longueur moyenne d'environ 250µm. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline » (**Geitler ,1932**).

On distingue plusieurs morphologies "spiralées", "ondulées", et "droites « Cette » particularités en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat.

Tableau 02 : Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa, 2005).

<p>- Les formes "spiralées", désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (Inde) et "Toliara".</p>	 <p>Forme spiralée (type « Lonar ») : 0,1 mm</p> <p>Forme spiralée (type « Toliara ») : 0,02 mm</p>
<p>- Les formes "ondulées", le terme "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (Pérou).</p>	 <p>Forme ondulée (type « Paracas ») : 0,1 mm</p>
<p>-Les forme "droites", le terme "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes telle le la variété M2 .</p>	 <p>Forme droite (type M2) : 0,1 mm</p>

5/Cycle biologique et modereproduction

Son mode de reproduction est asexuée, par segmentation des filaments ; ce processus ne doit pas être confondu avec la mitose, laquelle n'existe que chez les eucaryotes (**Cruchot,2008**).

Sa vitesse de multiplication est particulièrement rapide dès que la température dépasse 30°C à l'ombre lorsque ces condition sont réunies et que le milieu est favorable le temps de génération est très court (7heures) (**Jourdan, 1996et Zarrouk, 1966**).

La croissance de la spiruline est obtenue pour une température de 34 à 40C°, avec une population dense, un ensoleillement suffisant, et un pH de 8,5 à 10,5. Les éléments nutritifs essentiels doivent être en quantité satisfaisante (Fox, 1999).

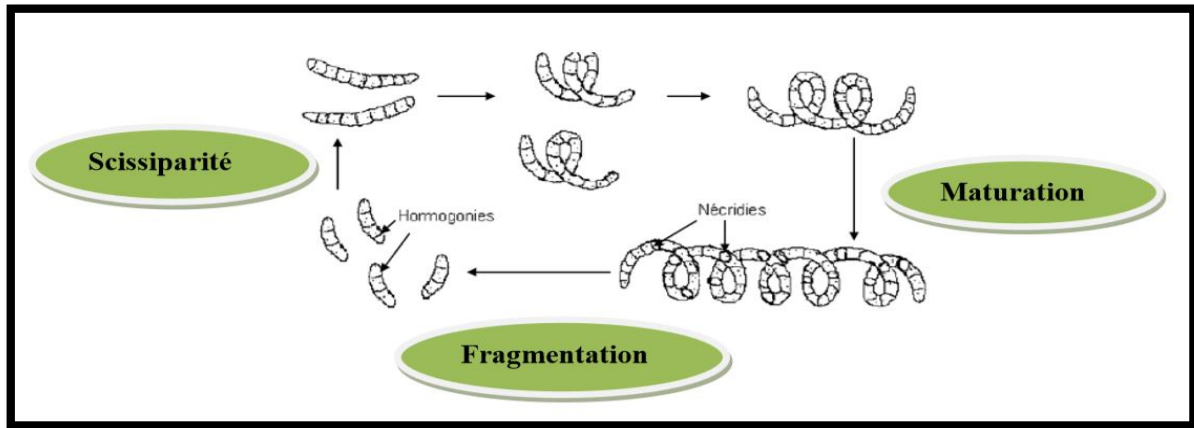


Figure 02 : Cycle biologique de la Spiruline (Ciferri,1983)

C'est donc une scission simple par segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes.

1. Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécridies, des cellules ayant un aspect concave.
2. Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécridies aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies. Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité.

6/ Déplacement

La spiruline est capable d'effectuer deux types de déplacement : la motilité et la flottabilité.

La spiruline évolue dans l'eau en se vissant, ce déplacement s'effectue à la vitesse de 5 µm par seconde (Jourdan, 1999).

7/ Écologie et habitat

A l'état naturel, la spiruline se développe dans des lacs alcalins riches en sels minéraux des régions chaudes et ensoleillées, soit dans une zone tropico-équatoriale entre la 35° latitude

nord et 35° latitude Sud (zone qui comporte en Afrique : Tchad, Kenya, Tanzanie (lac Natron), Djibouti, Éthiopie, Congo, Zambie, Algérie, Soudan, et. Tunisie ; en Europe : France, Corse, Espagne ; en Asie : Inde, Thaïlande, Myanmar, Sri Lanka, Pakistan, Chine et en Amérique : Pérou, Mexique, Uruguay, Équateur, Californie, Haïti, République Dominicaine) (Jourdan, 1999).

Son préférendum écologique doit composer de :

- Natronée (contenant du bicarbonate de sodium naturel) dont le pH doit être compris entre 8,5 et 11 - saumâtre (de 20 à 70 g de sel par litre d'eau).
- Chaude (entre 35 et 40°C), la croissance varie durant la journée, en dessous de 15°C et au-dessus de 39°C, elle s'arrête.
- Où le rayonnement solaire est important (donc soit sous les tropiques soit en altitude).
- Riche en nutriments apportés par les affluents des lacs et des sols (fer, azote, urée, acide phosphorique, sulfate de magnésium...).
- Riche en gaz carbonique et oxygène.

Tableau 03 : Les zones et les biotopes de la spiruline

Espèces	Biotopes	Zones
<i>Spirulina maxima</i>	Lacs alcalins-salés	Zones tropicales et subtropicales
<i>Spirulina plantensis</i>	Lacs alcalins	Zones chaudes

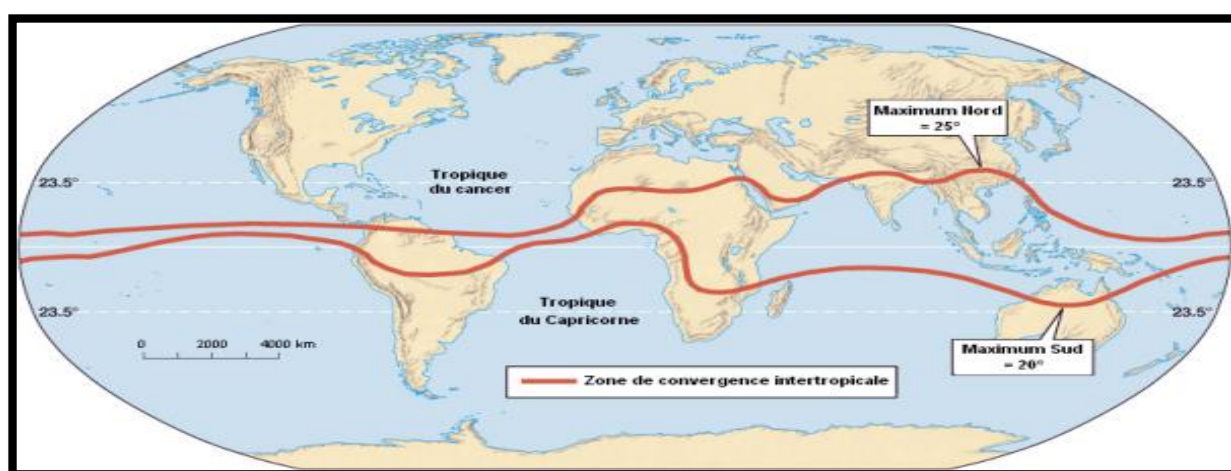


Figure 03 : Zone de croissance naturelle de la Spiruline dans le monde (Fox, 1999)

7.1 / Les facteurs du milieu

Il existe 4 facteurs essentiels déterminants pour la culture de la spiruline La température, la lumière et le pH et salinités.

Tableaux 04 : Les facteurs essentiels du milieu de la culture de la spiruline

Paramètre	Descriptions	Références
la Température	-Au-dessus de 43°C peut mortel, en dessous, la vitesse de multiplication baisse a20°C, la croissance est pratiquement stoppée la culture doit donc se situer entre ces deux température	Falquet ,1999 Jourdan ,1999
La lumière	La lumière influent directement sur la la spiruline qui assuré par la photosynthèse ainsi que une forte intensité lumineuse peut conduire à la photolyse.	Fox ,1999
Le Ph	Pour aboutir à une bonne croissance de la spiruline, le milieu de culture doit présenter un degré d'alcalinité situé entre 9 et11	Fox, 1999
Salinité	La spiruline peut être considérée comme une espèce à la fois halophile et très euryhaline.Les limites de la salinité et d'alcalinité permises sont assez larges, 13 g/litre pour la salinité et une alcalinité de 0,1 molécule-gramme/litre (b = 0,1).	Jourdan ,2006

8 /Culture et domaine d'utilisation de la spiruline

8.1 /Le milieu de culture

La spiruline se développe dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. La composition des milieux de culture peut varier énormément, selon la disponibilité des produits chimiques nécessaires à leur élaboration. Les limites de salinité et d'alcalinité permises sont généralement assez larges (salinité totale de 13 g/l) (**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. Le milieu de culture contient des engrais pour assurer la croissance des spirulines : l'azote, le phosphore, le potassium sont les éléments classiques, mais le soufre, le magnésium, le calcium et le fer doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais. Une

analyse préparatoire de l'eau et du sel est utile pour calculer la dose de Mg, Ca et Fer à ajouter dans le milieu de culture.

8.2/Milieu Jourdan (Jourdan, 2006)

Le milieu standard de Jordan, très souvent cité et servant de référence est préparé à base d'eau distillé et tous les éléments indispensables à la croissance des micro-algues.

Tableau 05 : Les compositions chimiques d'un milieu de culture typique Jourdan2006

Composition du milieu	Quantité g/L
Bicarbonate de sodium	8
Chlorure de sodium	5
Nitrate de potassium	2
Sulfate de potassium	1
Phosphate monoammoniaque	0,2
Sulfate de magnésium	0,2
Urée	0,02
Sulfate de fer	0,005

8.3 /Les différents modes de production de spiruline

La production de la spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Elles se différencient par l'ordre de grandeur de l'investissement (moyens et matériaux utilisés), la surface des bassins de culture et d'exploitation, le tonnage de ces productions et la sophistication des techniques de production. Quel que soit le mode de production, il se base sur les mêmes étapes (Charpy,2008).

8.3.1/ Production artisanale

Historiquement, ce mode de culture a été initié par Ripley Fox pour lutter contre la malnutrition dans les pays en voie de développement. Durant ces dernières années ce mode de production n'a cessé de croître, soutenu par de nombreuses ONG.

Ce sont des systèmes nécessitant de faibles apports en énergie. Les moyens mis en œuvre peuvent être rustiques, La qualité de la production est contrôlée tout au long de la production. Elles sont destinées à l'humanitaire ou en partie à la commercialisation (Charpy, 2008).



Figure 04 : Production artisanale

8.3.2/ Production semi-industrielle

Dans les pays en voie de développement, les fermes semi-industrielles utilisent les mêmes technologies que les fermes artisanales. Elles sont destinées à l'humanitaire et à la commercialisation. Leur objectif est d'être pérenne et autonome grâce à la vente de leur produit (Charpy, 2008).



Figure 05 : Production semi-industrielle

8.3.3/ Production industrielle

Représentée depuis plus de vingt ans par de grosses compagnies telles que Earthrise ou Cyanotech, elles se distinguent des précédentes par l'importance des moyens mis en œuvre

et leur capacité de production et leur objectif clairement commercial. La qualité est contrôlée de manière automatique par des systèmes informatisés (Charpy, 2008).

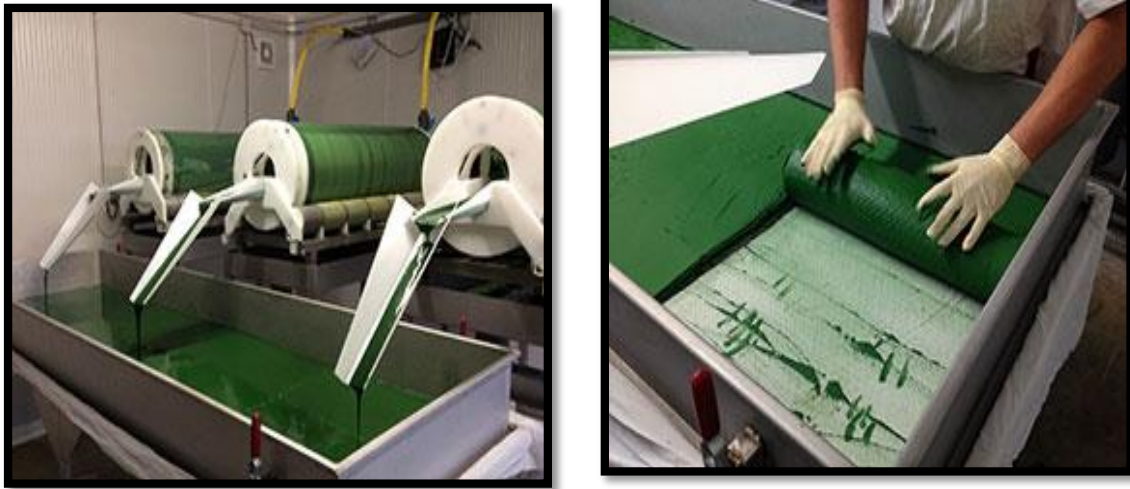


Figure 06 : Production industrielle

9/ Utilisation et les bienfaits de la spiruline

.1. Pour l'être humain

❖ Bienfaits pour la santé

- Spiruline contre anémie
- Spiruline contre maladies cardio-vasculaires
- Effets contre le diabète
- Immun modulateur

❖ Bienfaits cosmétiques

La spiruline renferme toutes les vitamines et minéraux nécessaires pour avoir une peau, des cheveux et des ongles sains

❖ Bienfaits thérapeutiques

- Anti-oxydante
- Anti-inflammatoire
- Anticancéreuse

❖ Complément alimentaire

- Spiruline et régime
- Favorable pour l'énergie, le sport et les muscles

2. / Pour les animaux

- Complément alimentaire : La spiruline est utilisée comme complément alimentaire chez les animaux de compagnie (chiens, chats, les chevaux, les vaches, les poules, les poissons et les oiseaux) (Henrikson, 1994).

- Favoriser la croissance et la fertilité : Des études sur les poissons d'aquarium et la crevette ont montré les effets bénéfiques de *Spiruline platensis* en ce domaine.

- Augmenter la pigmentation

En aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement.

- Élevage larvaire : Elle est utilisée à hauteur de 1 à 10% de l'alimentation pour augmenter la résistance immunologique des larves (Henrikson, 1994).

10/ Composition biochimique de la spiruline

Les différentes études réalisées afin de déterminer de façon précise les teneurs en nutriments et micronutriments de la spiruline, montrent des écarts assez conséquents, cela vient du fait qu'il existe différentes souches de spirulines, et la principale raison invoquée par les chercheurs, est que les différentes méthodes de culture, récolte, séchage et conservation des échantillons influencent davantage les écarts de composition biochimique. C'est pourquoi toutes les spirulines proposées sur le marché mondial ne sont pas exactement identiques sur le plan de leur composition nutritionnelle (Falquet, 2006).

Tableau06 : Le rôle et la tenue de composition nutritionnel dans la spiruline

Valeur nutritionnelle		Composition pour 10g	Avantages
Protéine (végétale)		55 à 70%	construction des corps
Glucide		15à25%	Apporte de l'énergie à l'organisme
Lipide		4à7%	Réserve énergétique fabrication hormones, bon fonctionnement de l'organisme
Vitamine	B1	30%	Participe à l'équilibre du système nerveux, des muscles et du cerveau
	B2	30%	Lutte contre le vieillissement de la peau, rides, lésions oculaires
	B6	4%	Facilite la digestion et l'assimilation des aliments. Stimule le système immunitaire
	B12	1000%	Fatigue, circulation, croissance

Tableau 07 : Composition minérale dans la spiruline

Composition Minérale	Composition pour 10 g	%	Rôle
Calcium	100 mg	10 %	Nécessaire à la formation des os et des dents, à la croissance et à la coagulation du sang, aux transmissions nerveuses, à la croissance et aux contractions musculaires
Fer	18 mg	100%	Essentiel à la formation de l'hémoglobine et au transport de l'oxygène dans le sang. Il accroît la résistance à la fatigue, aux infections et au stress
Magnésium	40 mg	20 %	Très important dans le fonctionnement des cellules, de l'influx nerveux, à la contraction et au développement des muscles, à la formation des anticorps
Phosphore	80 mg	8%	Stimule la croissance et la mémoire
Potassium	140 mg	5%	Rôle essentiel dans la perméabilité des membranes des cellules. Il régularise le rythme cardiaque et la tension artérielle, améliore les facultés mentales et oxygène le cerveau

La spiruline contient 60% de protéine, et nécessite peu de surface pour un rendement 20 fois supérieur au soja, 40 fois supérieur au maïs, 200 fois supérieur au bœuf.

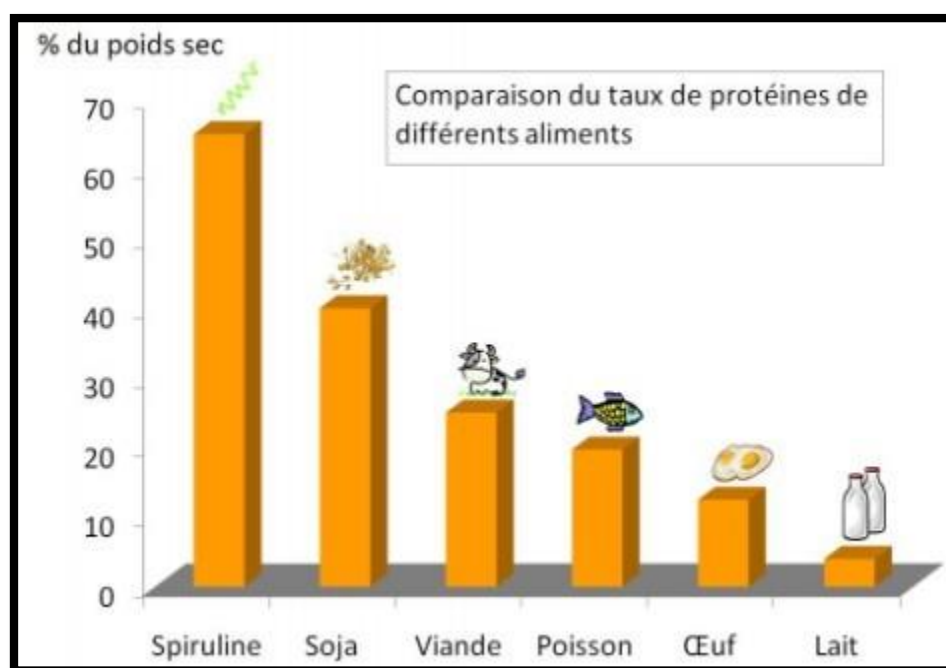


Figure 07 : Comparaison du taux de protéines de différents aliments

11 / Toxicité

Selon la thèse de **Hélène Cruchot, 2008** (Spiruline : Bilan et perspectives), 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.

12/Importance écologique de la spiruline**12.1/La spiruline contre la pollution**

La Spiruline produite ne provoque pas de pollution, ne participe pas à l'érosion des sols, ne contamine pas l'eau et enfin ne provoque pas la destruction des forêts. La Spiruline est cultivée sans pesticides, ni herbicides. Durant le processus de récolte et de séchage, aucun agent de conservation, ni aucun additif n'est utilisé.

12.2/La Spiruline est un grand pourvoyeur d'oxygène

Les forêts jouent un rôle important dans le stockage du gaz carbonique (CO₂). Les arbres sont les meilleurs végétaux pour fixer le carbone : de 1 jusqu'à 4 tonnes par an et par hectare. Mais la Spiruline est encore plus efficace elle peut fixer jusqu'à 6,3 tonnes de carbone par ha/an ; dans le même temps elle produira 16,8 tonnes d'oxygène (ha/an).

13/Importance économique de la spiruline**13.1/Protection du sol**

En raison de sa teneur en protéines végétales (60%) et de son taux de croissance rapide, la Spiruline produit 20 fois plus de protéines à l'hectare que le soja, et 200 fois plus que le bœuf. De plus, la culture de la Spiruline ne nécessite pas l'utilisation de sols fertiles mais seulement de bassins de quelques centimètres de profondeur (aquaculture). Il a été calculé que la production d'un kilo de protéines de blé occasionnait la destruction de 22 kilos de sol fertile ; La Spiruline produit davantage de protéines sans entraîner d'érosion des terres arables.

13.2/Protection d'eaux

Bien que la Spiruline pousse dans l'eau, elle exige beaucoup moins d'eau par kilo de protéines produites que n'importe quel autre aliment (végétal ou animal). , l'eau est recyclée dans les bassins après les opérations de filtrage et d'essorage. La protéine issue de la Spiruline consomme 1/3 du volume d'eau nécessaire à la protéine de soja, 1/5 de l'eau nécessaire à la protéine de blé, seulement 30 litres sont nécessaires pour produire 100 grammes de Spiruline.

Chapitre II :

Matériels et

Méthodes

1/ Choix et intérêt du microorganisme

La spiruline est un microorganisme exceptionnel, ayant de multiples utilités agroalimentaire, pharmaceutique, écologique et biotechnologique. Il présente aussi des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale (**Razafindrajaona et al, 2008**).

Le but de ce travail est d'essayer de cultiver au laboratoire et observer le comportement de l'algue spiruline dans des conditions expérimentales.

2/ L'origine de la souche

La souche utilisée dans ce travail est une spiruline de l'espèce *Arthrospira platensis* type M1 (morphologie ondulée), originaire de Pérou est un pays de l'ouest de l'Amérique du Sud, cultivé dans la ferme Spiruline Algérien Oran. Le volume de la souche reçue a été de 0.5L. Le volume a été placé dans un petit flacon d'eau de 1.5 ml.

3/Station d'étude

Toutes les expérimentations à savoir : installation de l'incubateur, préparation du milieu de culture, mise en culture et test biochimique, sont tous réalisés au niveau du laboratoire de biologie de l'Université Amar Thlidji-Laghouat.

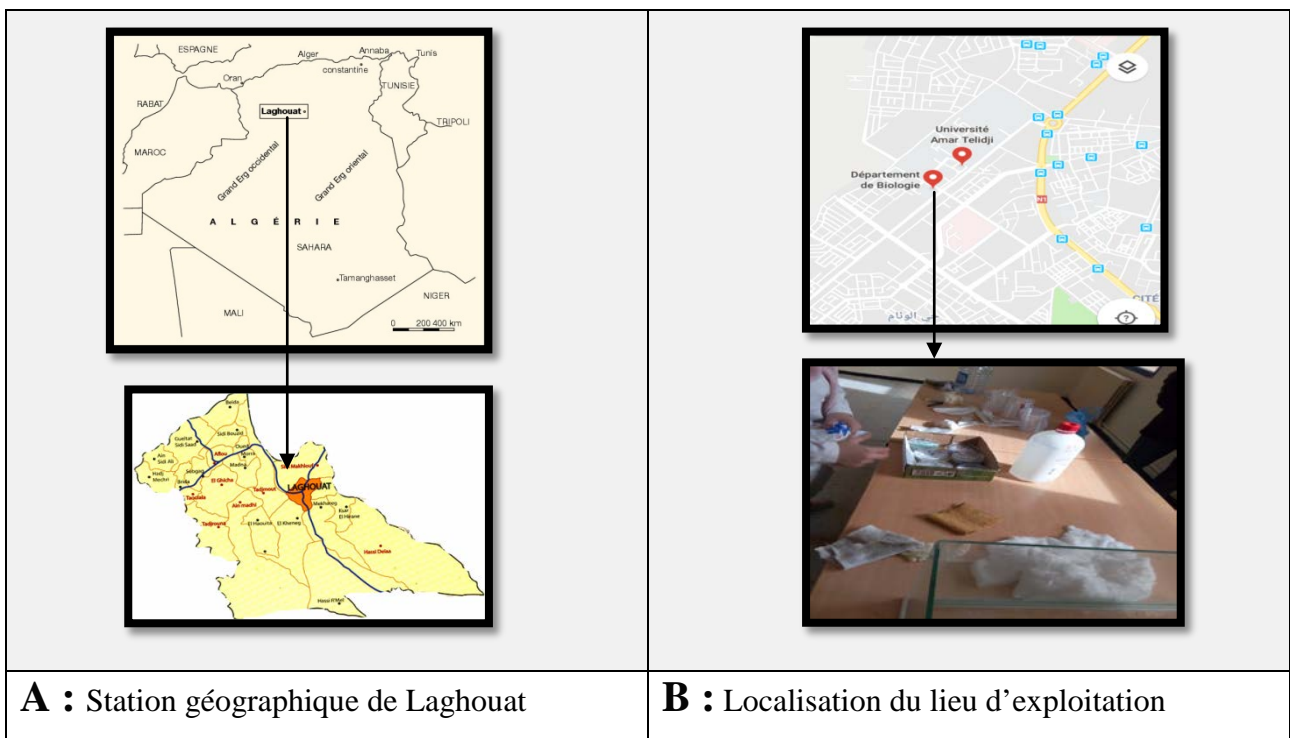


Figure 08 : Présentation de la zone d'étude

4/ Méthodologie

Dans le but de la réalisation d'une culture *in-vitro* nous avons préparés tous les moyens expérimentaux à savoir, l'appareillage, l'eau de forage ,la souche mère de spiruline et les produits chimiques.

5/La qualité de l'eau utilisée

Afin de réalise notre expérimentation au niveau de laboratoire, nous avons utilisée l'eau de forage, et le tableau ci-dessous présentes résultats de l'analyse physico-chimique :

Tableau 08 : Résultats d'analyse d'eau forage 31/01/2019

Type d'eau	CE à 25 C° (ds /m)	Ph	Salinité	Les anions (meq/l)			Les cations (meq/l)				Matières organique			
				³⁻ HCO	⁻ CL	⁻ SO ₄	⁺ Na	⁺ K	²⁻ Ca	²⁺ Mg	⁺ NH ₄	⁻ SO ₄	⁺ NO ₃	⁻ PO ₄
Forage	3760	7.45	1.9											
				1.5	19.1	21.4	26.2	2.1	7.0	17.4	56.6	0.06	0.18	0.8

6/Matériel utilisé

6.1 Installation de l'aquarium

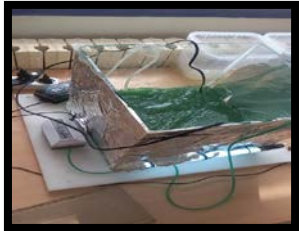
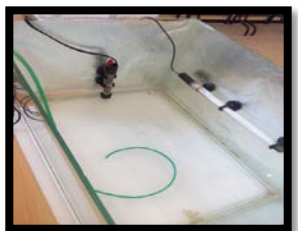




		
1-Aquarium de culture	2 _ Chauffage (thermostats)	3-Agitateur
		
4-Pompe d'aquarium	5- La souche de spiruline (0.5litre)	6- lumière

Figure 09: Préparation de l'aquarium et restauration des conditions expérimentales

6.2/Matériel de laboratoire

			
1-Balance électronique	2- Thermomètre	3- pH-mètres	4-Microscope optique
			
5-Lames et lamelles	6-Papiers aluminium	7-Papier filtre et entonnoir	8- Boite pétri
			
9-Mortier et pilon	10-Bécher	11-L'eau distillée	9-Micro pipette

Figure10 : Photo des principaux matériaux utilisés au laboratoire pendant notre expérimentation

6.3/ Les produits chimique

- ✓ Préparation des produits chimiques et des solutions

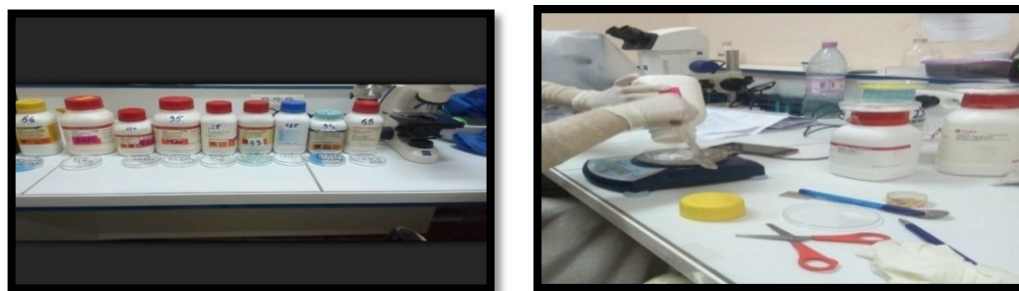


Figure 11 : Les produits chimiques utilisés dans la préparation de Milieu de culture de Jourdan

7/Conditions expérimentales

- Espace suffisant et propre.
- Aération,
- Avoir un bon éclairage par l'utilisation du papier aluminium sur les quatre façades.
- Température ambiante



figure 12 : installation de l'aquarium

L'opération de mise en activité nécessite deux étapes : l'une appelée initiale et l'autre finale.

7.1 /l'étape initiale

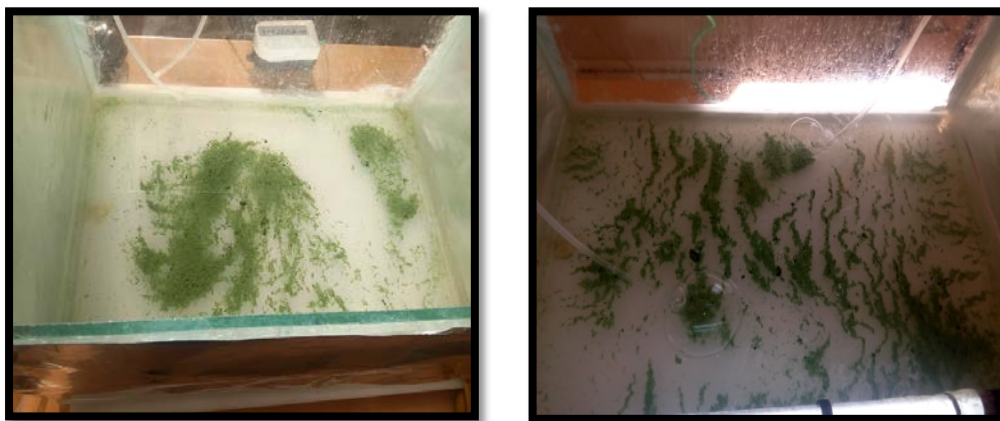


Figure 13 :La mise en préparation (stimulation) de la souche à partir du **01/02/2019**

7.2/ L'état finale

Dans cette étape, nous avons préparé le milieu de la culture pour essayer d'amplifier la souche de spiruline.

8 /Préparation de milieu de culture

Le milieu de culture choisi est celui de (Jourdan ,2006)



Figure 14: Mise de la culture de la spiruline dans le milieu Jourdan

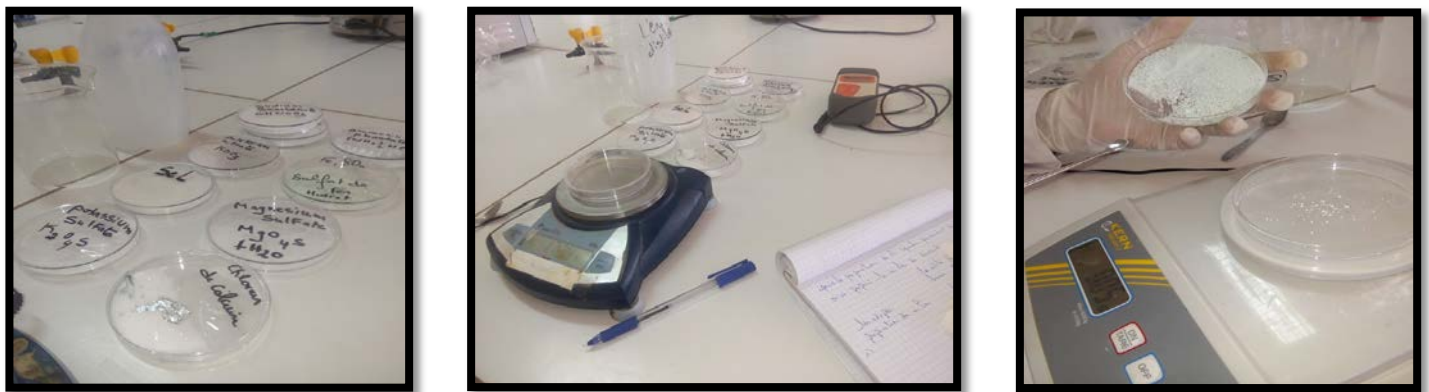


Figure 15 : Les différentes étapes de préparation de milieu de culture

8.1/Ensemencement

Après un mois de préparation (réactivation et stimulation) de la souche et dans le but d'accélérer la croissance de la spiruline on ajoute dans l'aquarium 1 litre d'eau distillé préparé contenant le milieu de culture de Jourdan.

8.2/Condition de culture

8.2.1 / Agitation

Agitation c'est une phase très importante qui fournit une bonne oxygénation, et ce faite par l'installation d'un aérateur et l'agitateur électrique 24/24h.

Une agitation permettre aux cellules l'accès aux nutriments et à la lumière,

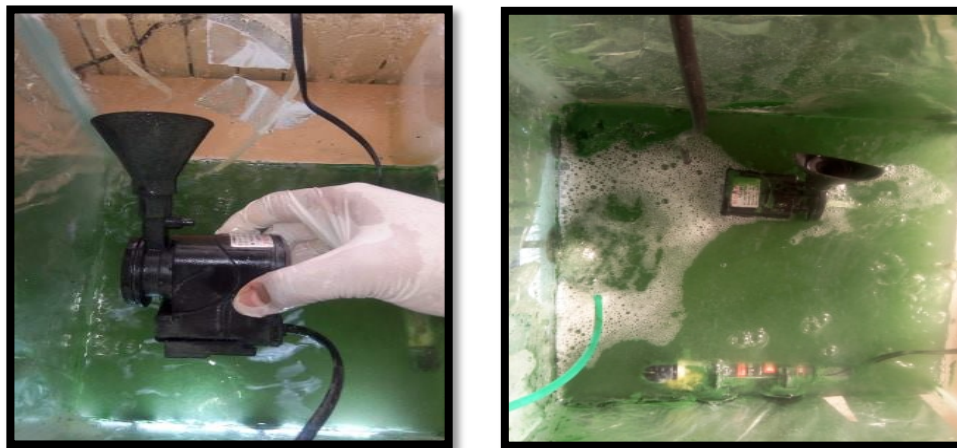


Figure 16 : Photo représente l'application de l'agitation automatique

8.2.2 / Éclairage

En plus à l'éclairage naturel nous avons installés une source lumineuse pendant toute la période de l'expérimentation 24h/24h.



Figure 17 : Installation d'une source lumineuse

8.2.3 Évolution du développement de la spiruline

8.2.3.1 Suivi de l'évolution des paramètres physico-chimiques

Un suivi systématique de deux paramètres clés tel que, la température et le pH tous les jours.

8.2.3.2 /Étude de caractérisation de la spiruline

➤ Caractérisation de la spiruline

Étude morphologique La forme et la couleur de la Spiruline varient en fonction du caractère physique et chimique du milieu environnant dans lequel vit la Spiruline. Le Suivi de la morphologie L'observation est réalisée par un microscope optique

8.3/Récoltes et filtration

Après formation du bulle, nous avons observons la présence d'une couche de spiruline à la surface de l'eau, à l'aide d'une cuillère en récupère en maximum la couche de la spiruline et filtre par des papiers filtré puis plaçons dans des boîtes de Pétri. Le filtre doit être recouvert pour empêcher la biomasse récoltée de se décomposer et de s'éroder. .

En faire le récolte chaque deux semaine pour estimation de la biomasse sèche de la spiruline.



Figure 18: Les étapes de récolte et filtration de la biomasse de spiruline (originale)

8.4 /Séchage

Si on a aucun intention de consommer la spiruline fraiche ou on veut la conserver, il va falloir la sécher, c'est une bonne façon de conserver la spiruline sur une longue période (**Jourdan, 1999**).

Alors on a fait essorée et séchée à l'air libre par des plaques en plastique pendant 24h, ensuite, mettez-la biomasse séchée dans une Mortier et pilon pour obtenir la poudre de spiruline, la biomasse obtenue est pesée à l'aide d'une balance électronique.

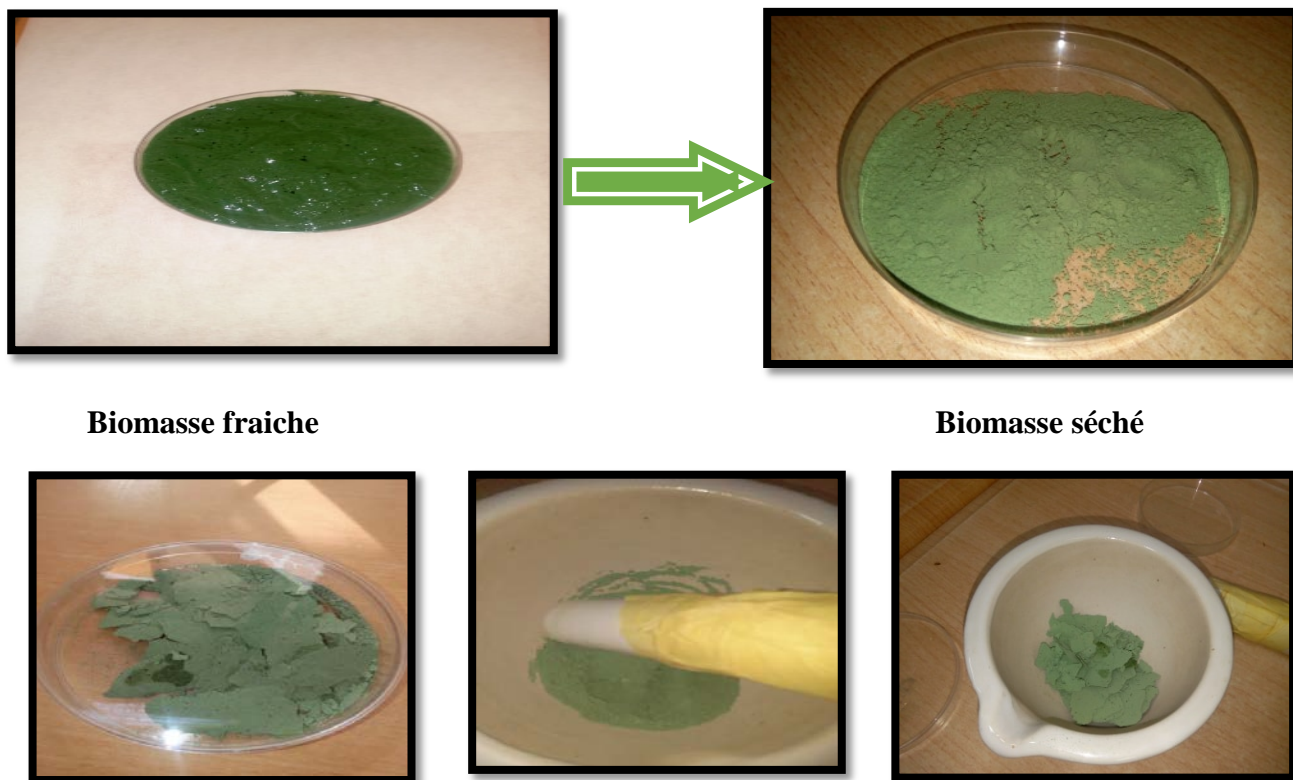


Figure 19: Poudre de spiruline originale

9/Valorisation de la spiruline produite

- **Dosage de protéines totales**

Le dosage de protéine est réalisé par la méthode de **Kjeldahl (ISO, 1997)**, en trois étapes : digestion (minéralisation), distillation et titration.

- **Principe de la méthode**

Est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, ce dernier sera converti en ammoniac par distillation. Un titrage par la soude de concentration connue permet de déduire la quantité d'ammoniac formée, donc la teneur en azote du produit initial milieu alcalin. La teneur en protéines calculée en multipliant le taux d'azote total (N%) par le coefficient de **6.25**.

9.2/ Mode opératoire

9.2.1/ Minéralisation

Dans un matras de **Kjeldhal**, on introduit :

- 7 g de sulfate de potassium K_2SO_4
- 7 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 .
- 1g de matériel biologique broyé (spiruline).
- 5ml d'eau oxygénée H_2O_2 .
- 35g de la soude caustique ($NaOH+4g$ L'acide borique $H_3BO_3+ 100$ ml l'eau distillée).
- 1.7 g de HCl .
- Méthyl rouge.



Figure 20 : Les produits chimiques utilisés dans le dosage de protéine

On ajoute et on place le matras sur le dispositif de chauffage a 400 C° pendant 30 min. L'ensemble est chauffé doucement et progressivement jusqu'à ce que la couleur noire disparaisse pour laisser place à une couleur bleue transparente. Par cette opération l'ensemble de l'azote organique est transformé en azote minéral sous forme d'ammoniaque (**fig.20**).



Figure 21 : Les différentes étapes de la minéralisation.

9.2.2/Distillation

Elle se fait dans une unité de distillation

Préparation de la soude caustique (NaOH) à 35%

100 ml Léau distillée mélange avec 35 g NaOH dans une fiole et chauffé pendant 5 min.

✚ Préparation de L'acide borique H₃BO 4 %

100 ml Léau distillée mélange avec 4g L'acide borique H₃BO dans un bécher et ajouter avec un agitateur pendant 5 min.



Figure 22 : Préparation de de la soude caustique (NaOH) et L'acide borique H₃BO

Et après finir la minéralisation de sulfates d'ammonium laisser refroidir pendant 10 min on ajouter 50 ml l'eau distillée + 50 ml de la soude caustique (NaOH)(fig.20).



Figure 23: Étapes finale de minéralisation pour ajoute le mélange de l'eau distillée et (NaOH)

Après préparation de la solution minéralisé, on place le matras et le bécher contenant 25 ml de l'acide borique dans le distillateur, puis attendre le remplissage du bécher jusqu'à 100 ml. Le mélange composé de 25 ml l'acide borique et 75 ml de solution minéraliser (**fig.24**).



Figure 24 : Étapes de distillateur

9.2.3/ Titration

Puisqu'on utilise l'acide borique comme liquide de récupération. On va alors titrer l'excès d'acide sulfurique avec la solution de HCl 0.2 N jusqu'à changement de la coloration du rose claire.

✚ Préparation de la HCL 1.7 %

100 ml Léau distillée mélange avec 1.7 g HCL dans un bécher et ajouter avec un agitateur.

✚ On ajouter quelque goutte de méthyle rouge dans la solution minéraliser jusqu'à l'obtention d'une solution d'une couleur jaune ,puis on ajouter le HCL par la burette gout a gout jusqu'à l'apparition d'un changement de couleur du jaune vers le rose claire.



Figure 25 : Étapes finale : Titrage de l'ammoniac

9.2.4/ Expression des résultats

✓ Azote total

Le pourcentage d'azote total (N%) est calculé par la formule suivant :

1N (HCL) \longrightarrow 2.80 Mg NH₃

9.2.5/Conversion du taux d'azote en taux de protéines

100 g de protéines correspond à 16g d'azote dans la majorité des cas. On utilise un facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines

$$F = 100/16 = 6,25$$

Donc, le taux des protéines brutes (PB%) est exprimer par :

$$PB\% = N * 6,25$$

Matière de protéine :

$$N \times 6.25$$

10

10/ dosage de glucides total

La teneur des glucides totaux pour l'algue *Spiruline* a été déterminée par la méthode de Dubois et al (1956).

10.1/Principe

En présence d'acide sulfurique concentré (97%), les produits se condensent avec le phénol pour donner des complexes jaune-orange, l'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490 nm.

11.2/Mode opératoire

🚦 1^{ère} étape :

On ajoute dans un bécher contenant 0.5 g de la poudre 20 ml d'acide sulfurique (0.5 M), puis le mélange acide et sera porté à l'incubation dans une étuve une température de 105°C pendant 3 heures.



Figure 26 : Acidification de la spiruline par l'acide sulfurique et étuvage

2^{ème} étape

Retiré le mélange et laissé refroidir à l'obscurité pendant 30 minutes puis ajouté l'eau distillée jusqu'à un point fixe de 500 ml.

3^{ème} étape

Dans un tube en pyrex (2 cm), introduire à l'aide d'une micropipette avec précaution 1 ml de filtrat de l'échantillon convenablement dilué, puis ajouter 1ml d'une solution de phénol à 10% et 5 ml d'acide sulfurique (96 %) à l'aide. Après agitation les tubes sont maintenus pendant 5 minutes à 100 °C.

Une incubation de 30 minutes à l'abri de la lumière, l'absorbance est lue à 490 nm. La coloration des échantillons reste stable pendant 3 à 4 heures. Pour chaque série de détermination, une gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution mère de glucose à 100 µg/ml.



Figure 27: Lecture par le spectrophotomètre

Chapitre III :

Résultats et

Discussions

Lorsque nous fournissons toutes les conditions favorables pour la production de spiruline (l'eau du forage, Température et pH appropriée et salinité modérée), nous obtenons les résultats suivants.

1/Résultats de la phase initiale

Après préparation milieu qui composée de spiruline et l'eau de forage, aussi sel et bicarbonate de sodium comme des éléments du base pendant 1 mois pour leur développer afin de commençons à l'appliquer milieux de la culture du (Jourdan, 2006). Nous avons remarqué une évolution remarquable du changement de quantité et de couleur.

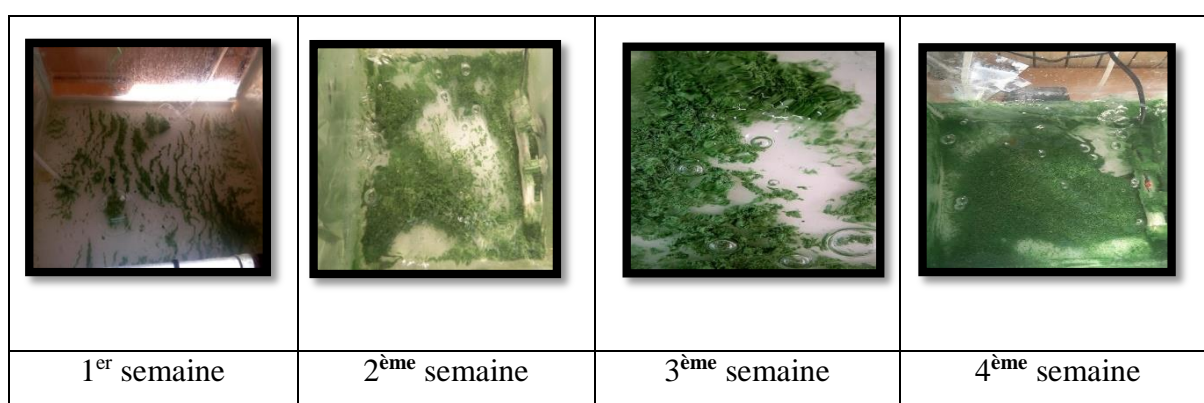


Figure 28 : Résultat de la phase initiale a compté de 03/02/2019

A chaque fois nous avons remarqué changement de la couleur de la spiruline du vert foncé au vert clair et aussi notez que la quantité de spiruline augmente de manière relative remarquable.

2/Résultats de la phase finale

Cette phase c'est une l'étape fondamentale de la prolifération de spiruline qui due à la disponibilité de matériaux essentiels et des conditions nécessaires à leur développement.

2.1/Évolution des paramètres physico-chimiques

La température (T°C) et le potentiel Hydrogène (pH) sont les deux paramètres mesurés systématiquement durant toute la période de culture de Spiruline. Les valeurs enregistrées sont récapitulées dans le tableau suivant.

Tableau 12:Évolution de la température et du pH des cultures de Spiruline

Les dates	C°	Ph
03 mars 2019	34 ,1	8,79
04 mars2019	34,3	8,9
05mars2019	34,4	9,1
06 mars2019	34,3	9,4
07mars2019	34	9,6
10mars2019	34	9,8
11 mars2019	34,2	10,3
12mars2019	34,2	10,6
13mars2019	34 ,1	10,08
14mars2019	34,4	10,1
17mars2019	34,3	10,18
18mars2019	34,5	10,2
19mars2019	34.6	9,7
20mars2019	34,4	9,89
21mars2019	34,5	9,92
24mars2019	34,5	10,19
25mars2019	34,4	10,26
26mars2019	34,4	10,26
27mars2019	34,4	10,3
28mars2019	34,5	10,32
31mars2019	34,5	10,39
01 avril 2019	34,4	10,42
02avril2019	34,4	10,48
03avril2019	34,3	10,58
04avril2019	34,3	10,57
07avril2019	34,5	10,57
08avril2019	34,5	10,34
09avril2019	34,6	10,39
10avril2019	34,4	10,35
11 avril2019	34,5	10,37
14avril2019	34,7	10,47
15avril2019	34,6	10,4
16 avril2019	34,5	40,41
17avril2019	34,4	10,42
18avril2019	34,4	10,43
19avril2019	34,5	10,42
22avril2019	34,5	10,41
23avril2019	34,6	10,43
24avril2019	34,5	10,42
25avril2019	34,5	10,45

❖ La température

La température moyenne ambiante était de 34 °C pendant toute la durée de l'expérimentation des deux mois mars et avril. Les valeurs moyennes de la température de milieu de culture étaient :

-Pour le mois mars la valeur maximale est de 34,5 °C et minimale de 33,4 °C

-Pour mois d'avril la valeur maximale est de 34,7 °C et minimale de 34,3°C

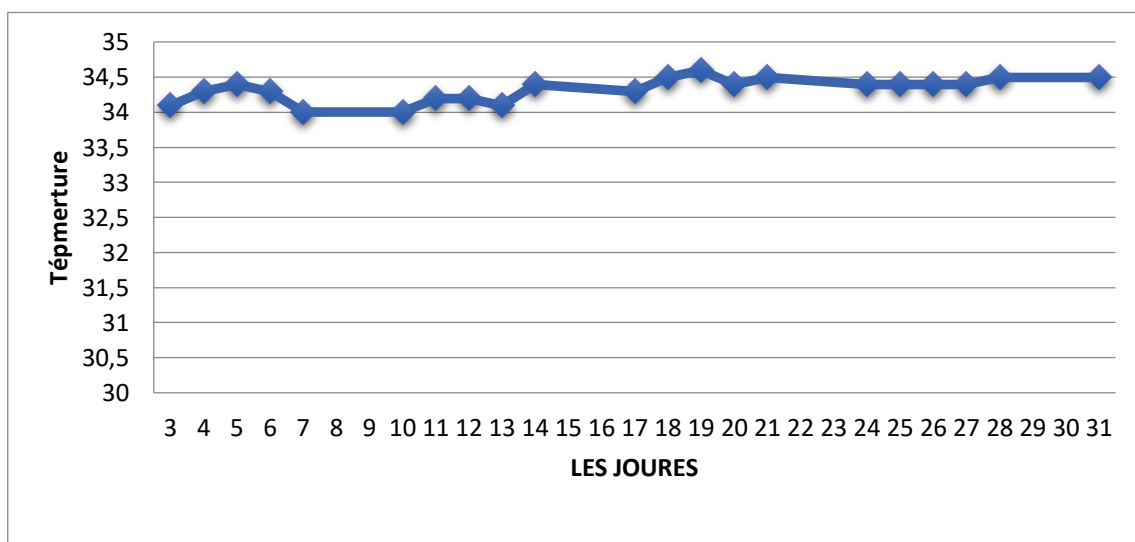


Figure 29 :Évolution de la température *in-vitro* durant le mois de mars

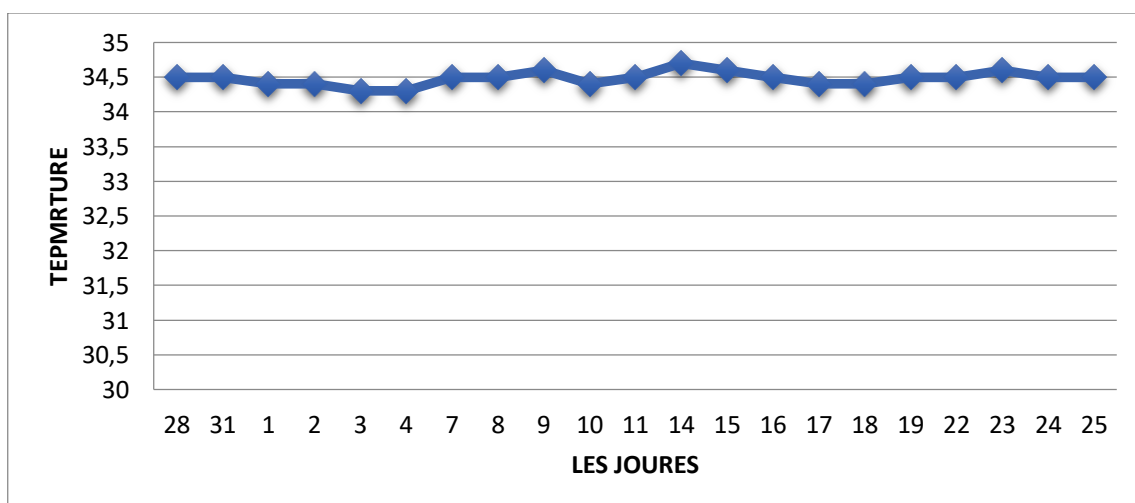


Figure 30 :Évolution de la température *in-vitro* durant le mois d'Avril

❖ Le potentiel Hydrogène (pH) :

Les résultats de notre mesure de pH montrent une valeur moyenne égale à 10 qui reflète un aspect alcalin des eaux de l'aquarium.

La fourchette du pH varie entre 8.79 et 10.58, en effet l'évolution du pH pour le mois de mars est variée entre une valeur maximale de 10,39 et minimale de 8,79. Alors que, pour le mois d'avril, la valeur maximale était 10,58 et 10,34 comme une limite inférieure.

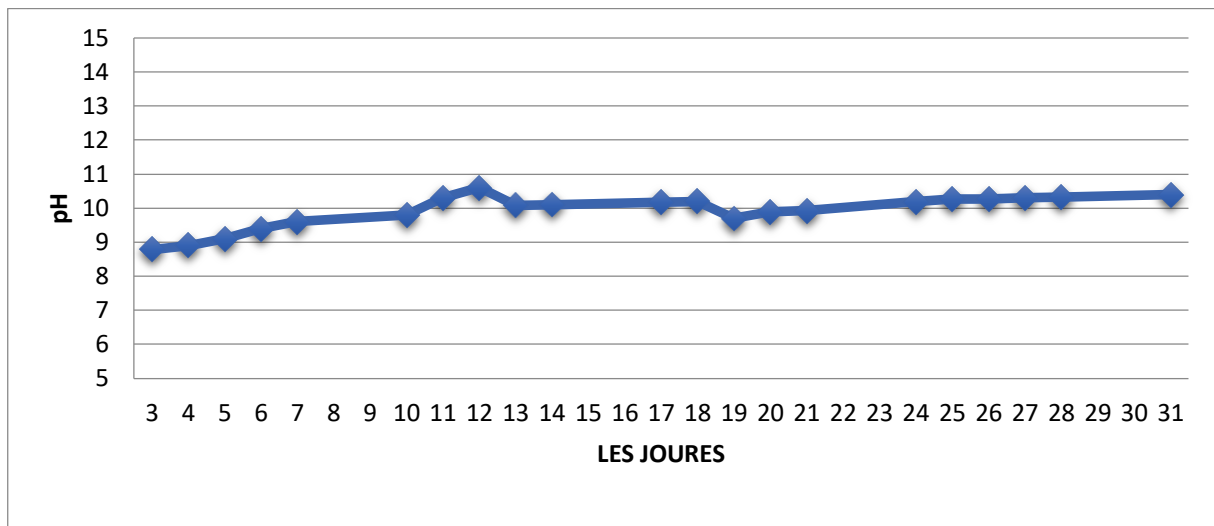


Figure 31 : Variations des valeurs de mesures du pH pendant le mois de mars

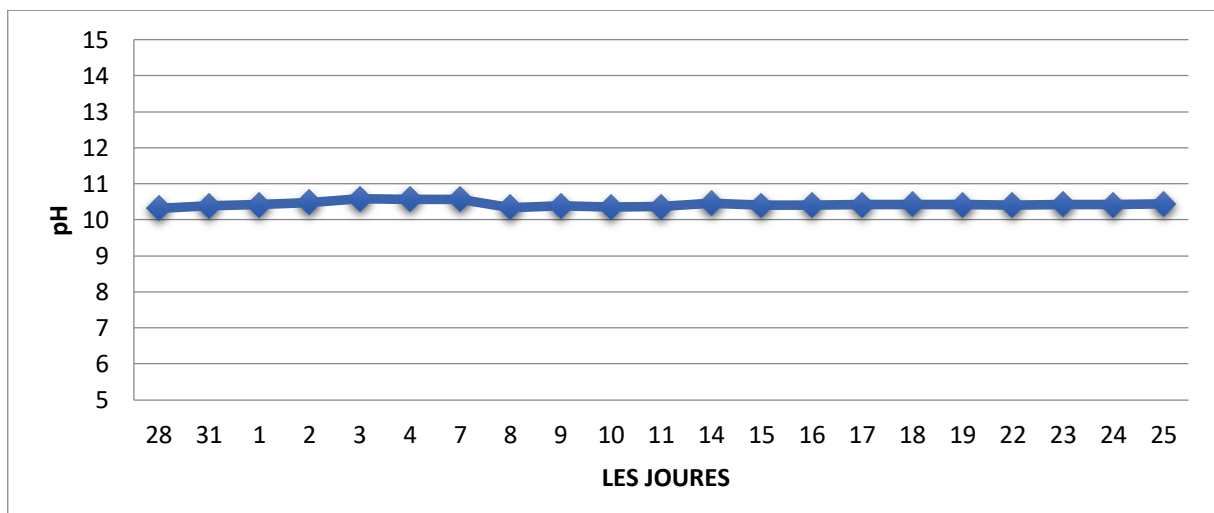


Figure 32 : Variations des valeurs de mesures du pH pendant le mois d'avril

3/Caractérisations de la spiruline

3.1/Étude morphologique et changement de couleur

Des observations microscopique effectuées d'une façon périodique nous a permis de suivi les différents aspects de l'évolution morphologique et les caractérisations comme la couleur, la taille et la forme de la spiruline durant toute la période de culture *in-vitro*. La figure ci-dessous nous montre les différents aspects morphologiques observés.

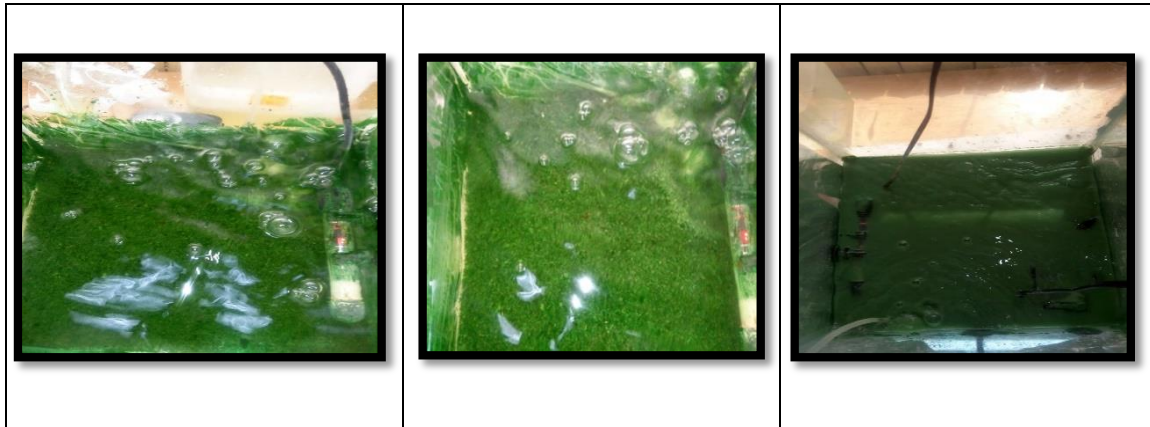


Figure 33 : Observation macroscopique (œil nue) des différents aspects morphologiques couleur et la quantité de la spiruline (photo originale)

A chaque fois nous observant grâce au microscope optique les différents changements de couleur de la spiruline du vert foncé au vert clair et aussi notez que la quantité de spiruline augmente de manière relative remarquable.

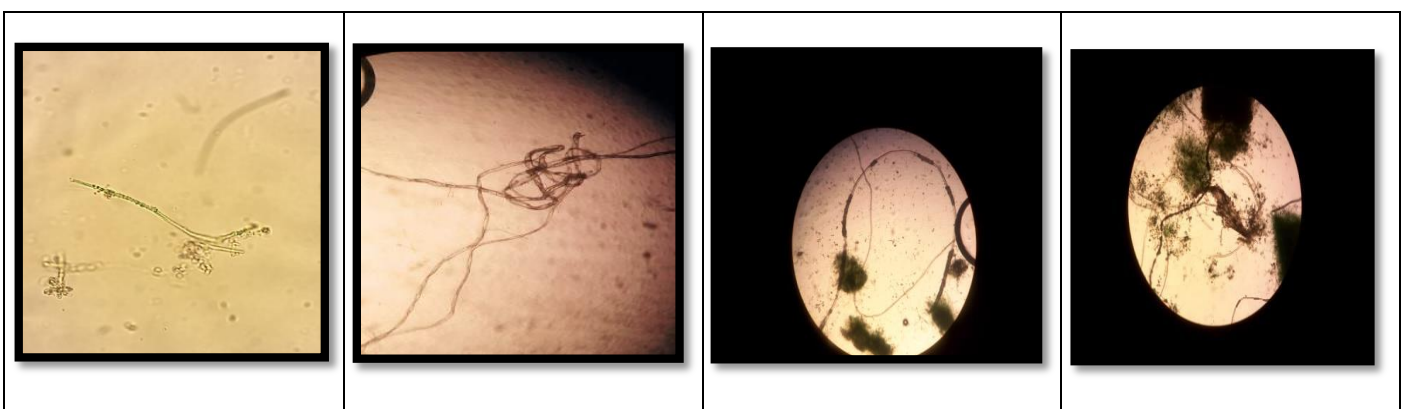


Figure 34 : La forme et la taille de la spiruline observée au microscope optique(ObjectifX40)

3.2/Estimation de la biomasse produite

La biomasse de la Spiruline analysée a été récoltée chaque 2 semaine pendant toute la période de culture *in-vitro*. Les valeurs correspondantes de la T°C, pH, la masse de la poudre ainsi la date ont été effectués en parallèle.

Tableau13 : Les résultats des mesures de la température et du pH durant la récolte de la biomasse

Dates	T°C	pH	Volume d'eau en (ml)	La masse en (gr)
14/03/2019	33,8	10,1	200	0.5
31/03/2019	33,5	10,39	200	1
11/04/2019	33,2	10,37	200	1.9
16/04/2019	34	40,41	200	2.5

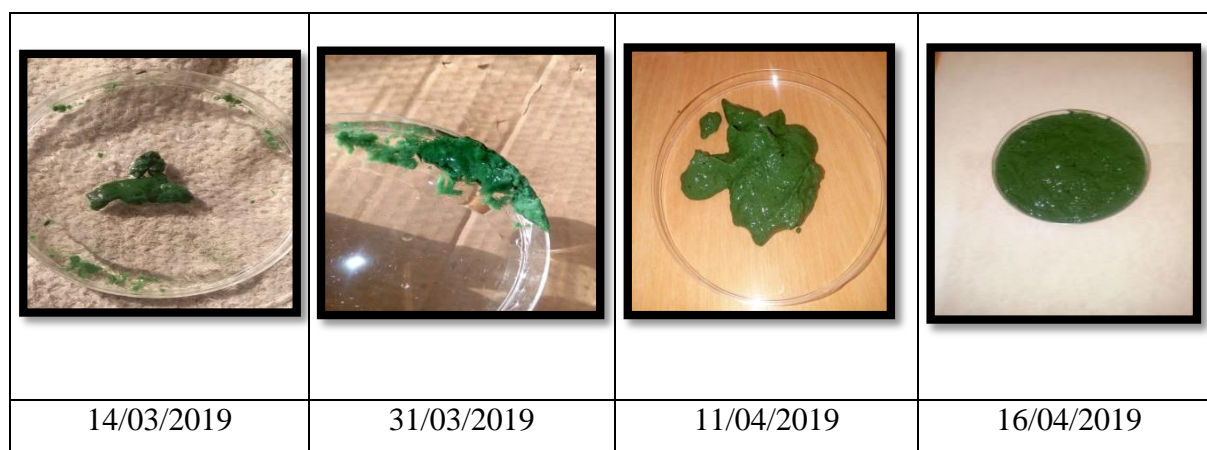


Figure 35 : Chronologie de l'évolution de la biomasse de la spiruline

Après le calcul, nous obtenons les résultats montrés dans le tableau suivant et ceci après l'achèvement de la production.

Tableau 14 : Estimation de la biomasse sèche de la spiruline

Volume d'eau en ml	La masse en g
200	2.5
6000	75

5/Résultats de l'analyse biochimique

5.1/Teneur en protéines

Les protéines tiennent une place importante dans notre alimentation. En effet, pour l'Homme et l'animal, le besoin en protéines est d'environ 12 à 15% de la matière sèche du régime alimentaire.

La teneur en protéines brutes est l'un des critères utilisés pour évaluer la valeur nutritive d'un aliment. L'évaluation du taux de protéines brutes d'algue Spiruline. par la méthode de **Kjeldhal** (1883) révèle qu'elle contient environ 43.78% de protéines. Cette valeur apparait inférieur au résultat de (**Jourdan, 1999**), où la valeur elle comprise entre 60 et 70% de son poids sec. Selon (**Falouet, 2006**), Cette différence peut être expliquée par l'influence de la différence dans les méthodes de culture, récolte, et conservation des échantillons trouvés.

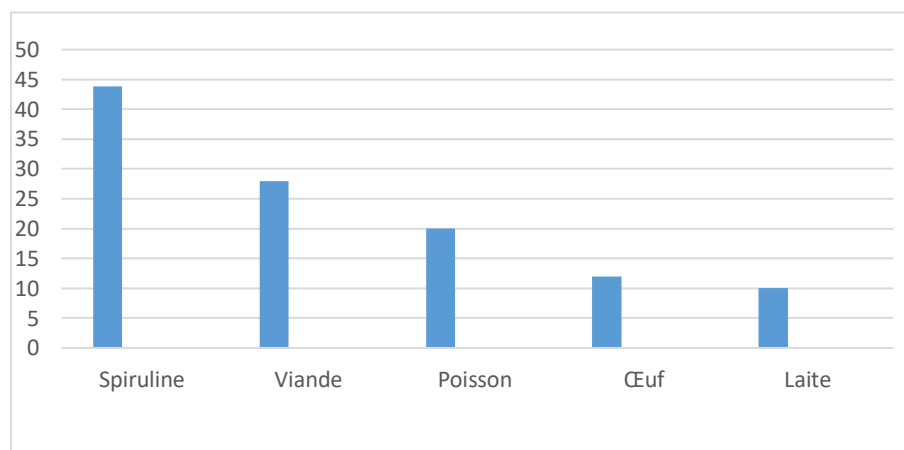


Figure 36 : Taux de protéine de notre spiruline en comparaison avec les autres aliments

5.2/Teneur en glucides

L'évaluation du taux de glucides totaux par la méthode de **Dubois et al (1956)**, indique que les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines(**Jourdan, 1999**).

La teneur de glucides dans notre travail est 17.1%. Cette valeur était excellente et très importante pour le besoin du l'homme et même aussi pour l'animal.

Conclusion

Et perspective

Conclusion

Notre travail a été organisé suivant une démarche scientifique sur les données bibliographiques et l'expérimentation *in-vitro* liée à une cyanobactérie d'intérêt appelée la spiruline *Arthrospira platansis*. La présente étude vise à de cherché la possibilité de produire *in-vitro* cette espèce micro-algue et l'élaboration une fiche technique concernant les facteurs déterminants des conditions expérimentales et le degré énergétique de l'algue.

Un milieu de culture mixte à base d'une d'eau de forage combiné avec de composantes principales de milieu Jourdan (2007) ont été préparé.

Les résultats obtenus ne a permis de conclure :

- que la qualité de l'eau, la température et le pH sont considéré comme des facteurs essentielle pour le conditionnement *in-vitro* de la production de la spiruline car l'eau de forage est l'une des facteurs les plus importants qui contrôlent le succès du milieu en raison de son impact direct sur la production.
- On peut dire aussi que plus la salinité de l'eau était élevée, plus l'application de la culture de spiruline était réussie et facile.
- Le rôle fondamental de la température et Le pH dans le développement et la prolifération de la spiruline.
- Nous avons pu déterminer les limites de l'optimum (préférendium) où la température et le pH sont responsables sur l'une des processus de prolifération et la vitesse de croissance. Donc notre spiruline s'accroître mieux dans des températures moyennes de 34°C et un pH moyen de 10.
- L'analyse de la composition biochimique de l'algue nous à montrer que notre souche (*Arthrospira plantais*) présente un taux de protéine brute égale à 43.78% ; ce dernier considéré comme un rendement faible en comparaison avec d'autre souches et méthodes de production. Néanmoins l'estimation du taux de glucides indique une valeur très motivante avec 17.1%.

Perspectives

Vu à l'importance de la production de l'algue *Spirulina (Arthrospiraplansis)* et surtout dans les filières d'intérêt comme le domaine agroalimentaire et pharmaceutique .cette étude originale devient très motivante afin d'entamé d'autre axes de recherches à savoir .

- ✓ La recherche et l'isolement des souches locales et les mettent en culture.
- ✓ De pense à la création des fermes aquacoles qui traite et pratique ce type de culture.

Référence

Bibliographique

C

- Cruchot.H, 2008.** La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite.
- Ciferri, O, (1983).**Spirulina, the Edible Microorganism. Microbial. Rev. Vol. 47:551-578.
- Charpy L, (2008).** Colloque International « la Spiruline et le développement», formation et transfert de technologie, en matière de culture de Spiruline: 28 - 29 et 30 avril 2008.Toliara SUD-OUEST MADAGASCAR : 8, 9, 89, 91, 131-1340.

D

- Durand-Chastel .H, (1993)** La Spiruline, algue de vie. Bull. Inst. Océanog. Monaco, n° spécial 12 : 7-11.

F

- Feldmann, J, (1966).** Les types biologiques d'Algues marines benthiques. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 113(sup2), 45-60.
- **Fox R.D, (1986)** "Algoculture : la spirulina, un espoir pour le monde de la faim", Edisud, Aix-en-Provence
- **Fox R.D, (1996)** "Spirulina, production & potential", Edisud, Aix-en-Provence
- Fox R.D, (1999).**Spiruline Technique, pratique et promesse. EDISUD, Aix-enProvence. p 246.
- Falquet, J., & Hurni, J. P. (1986).** *Spiruline: aspects nutritionnels*. Flamant vert.
- Farrar, W.V, (1966).** Techuitlatl, a Glimpse of Aztec Food Technology. Nature. N° 5047.
- Falquet, J., & Hurni, J. P. (1986).** *Spiruline: aspects nutritionnels*. Flamant vert.

-**Farrar, W.V, (1966)**. Techuitlatl, a Glimpse of Aztec Food Technology. Nature. N° 5047.

-**Falquet .J, (1996)**. spirulina : Aspects nutritionnels,document Antenna technologie Genève

-**Falquet. J, (1996)**. Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologie. Vol. 29, r. de Neuchâtel CH-1201 Genève, Suisse. P. 1-16.

- **Falquet.J ,(2006)**. Spiruline aspects nutritionnels Genève 41P.

-**Falquet J. et Hurni J-P. (2006)**. Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologies.

G

-**Geitler .L, (1932)**. Cyanophyceae. In : Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. Kolkwits R. (Eds.) Leipzig Germany : Akademische Verlagsgesellschaft. 14.

H

-**Henrikson .R, (1994)**. "Spirulina, superalimento del futuro «, Ediciones Urano, Barcelone.

-**Hocini, A., & Zebboudj, A. E. (2017)**. Production de la Spiruline en Algérie (Arthrospira platansis) : Bilan et perspectives.

I

-**ISO, 1997**. Aliments des animaux. Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes- Méthode kjeldahl. ISO 5983, 9 pp.

J

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

-**Jourdan J.P. (1996)**. "Sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture", International symposium on Cyanobacterial biotechnology", Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Inde.

-**Jourdan J.P. (1999)**. Cultivez votre spiruline : Manuel de culture artisanale, Genève, PP85, 63.

-**Jourdan J.P.(1999)**. sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture, international biotechnology,Inde, PPP58,96,97.

-**Jourdan J.P, (2006)**. Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal .Publication Antenna Technologies.

Jourdan J.P. 2007. Manuel de culture de la Spiruline. Antenna Technologies. Disponible sur: <http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2o6l.pdf>

k

Kihlberg R,1972. The microbe as a source of food. Annu. Rev. Microbiol P427, 466.

L

-**Léonard, J. (1968)**. Discovery, ecology and nutritional utilization of *Spirulina platensis*. Communication à la réunion du Swedish. Council for Applied Research, Stockholm, 11.

R

-**Roger.P.A,** (2006). Lescyanobactéries : définition. Disponible sur : <http://pagespersoorange.fr/cyanobacteries/pages/Introduction/definition.htm> 2006

Razafindrajaona J. M.Rakotozandriny J; Rakotozandrindrainy R ;Tsivingaina .A; Dramapiherika K .D ;Randria J. N. 2008. Influence de l'incorporation dans les provendes de la spiruline de Madagascar (spirulina platensis var. toliara) sur la croissance des poulets de chair. Colloque international sur la Spiruline

S

Sall et al, 1999 .LA SPIRULINE : UNE SOURCE ALIMENTAIRE A PROMOUVOIR, revue Midecine

Z

-**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.

Site web

- lesjardinsdelaroussiere.fr
- <https://www.spirulinefrance.fr/bienfaits-spiruline/la-spiruline-a-travers-les-civilisations>
- http://www.nutriformconcept.be/fr/news/17_la-spiruline-une-algue-bleue-aux-supers-pouvoirs
- spiruline-fr.com
- https://www.google.com/url?sa=i&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwizlPbxp_riAhUINBQKHeMkBHQQjB16BAgBEAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.spiruline-de-retz.fr%2Fla-spiruline%2F&psig=AOvVaw2Jiuala_yPUSHFcyN4LlJ0&ust=1561196380666580

- <https://www.info-afrique.com/spiruline-algue/>
- <http://www.fao.org/news/story/fr/item/44435/icode/>

Résumé

Résumé

Le présent travail présente une contribution à étudier la possibilité de produire *in-vitro* une espèce de micro-algue et de l'élaboration d'une fiche technique concernant les facteurs déterminants des conditions expérimentales et le degré énergétique de l'algue.

Les résultats obtenus ne a permis de déterminer les limites de l'optimum (préférendum) où la température moyenne était 34°C et le pH moyen égal à 10. La salinité de l'eau était lorsque devient plus élevée, la culture de spiruline était réussie et facile.

L'analyse de la composition biochimique de l'algue nous à montrer que notre souche (*Arthospira plantais*) présente un taux de protéine brute égale à 43.78% et un taux de glucide de 17.1%.

Vu l'importance de sa composition énergétique, il est le temps de pensé a développé cette filière des activités et de culture en Algérie.

Mots clés : *Spiruline*, culture *in-vitro*, physico-chimiques, Biomasse, qualité biochimique

ملخص

يقدم العمل الحالي مساهمة في دراسة إمكانية إنتاج أنواع من الطحالب الدقيقة داخل المخبر و وضع تقنيات بشأن العوامل المحددة الظروف التجريبية ومستوى الطاقة من للطحالب. النتائج التي تم الحصول عليها تمكنت من تحديد الأمثل حيث كان متوسط درجة الحرارة 34 درجة مئوية ومتوسط درجة الحموضة يساوي 10. و درجة ملوحة المياه مرتفعة ، كان استزراع سبيرولينا ناجح وسهل . لديها مستوى البروتين الخام (*Arthospira plantais*) يوضح لنا تحليل التركيب الكيميائي الحيوي للطحالب أن سلالة يعادل 43.78 ٪ ومحتوى الكربوهيدرات من 17.1 . بالنظر إلى أهمية تكوين الطاقة، فقد حان الوقت للتفكير بتطوير هذا القطاع من الأنشطة والثقافة في الجزائر. **الكلمات المفتاحية :** سبيرولينا ، استزراع ، كيمياء فيزيائية ، كتلة حيوية ، جودة كيميائية حيوي، الجزائر .

summary

The present work presents a contribution to study the possibility of producing *in-vitro* a species of micro-algae and the elaboration of a technical sheet concerning the determining factors of the experimental conditions and the energetic degree of the seaweed.

The results obtained did not make it possible to determine the limits of the optimum (preferendum) where the average temperature was 34 ° C and the average pH equal to 10.

The salinity of the water was when becomes higher, the spirulina culture was successful and easy.

The analysis of the biochemical composition of the alga shows us that our strain (**Arthospira plantais**) has a crude protein level equal to 43.78% and a content of 17.1%.

Given the importance of its energy composition, it is time to think developed this sector of activities and culture in Algeria.

Key words: Spirulina, In-vitro culture, Physicochemical, Biomass, Biochemical quality, Algeria.