REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET
DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Départements des sciences agronomiques

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de master
Filière : science biologique et Sciences Agronomiques
Option : traitement et valorisation des ressources hydriques

Thème

Possibilité de culture de *spirulina platensis* dans divers produits agricoles

Réalisé par :

M^{elle} : Mimouni Zakia

M^{elle} : Ameur Nassima

Devant le jury :

Président :	Mr Metahri M.S.	M.C.A.	U.M.M.T.O.
Promotrice :	Mme Ben ahmed Djillali .A	M.C.A.	U.M.M.T.O.
Examinateur :	Mr Moualek.I	M.A.A	U.M.M.T.O.

Promotion: 2016-2017

Remerciement

Nous tenons à remercier Dieu de nous avoir donné la force et la bonne santé, la patience, la volonté et le courage de mener à bon terme ce modeste travail.

Il nous est agréable d'exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice M^me^ Ben Ahmed djillali de nous avoir guidé au cours de ce travaille. Nous lui exprimons notre reconnaissance pour ses précieux conseils qui nous ont aidés dans l'élaboration de ce travail.

Aussi tous nos remerciements et notre profonde gratitude

À M^me^ Bachatene

Notre gratitude va particulièrement à tous nos enseignants du département des sciences Agronomiques Tizi-Ouzou

Nous tenons à remercier M Metahri .M d'avoir honoré notre jury en acceptant de le présider

Nous remerciements s'adressent aussi à M Moulek .I, pour avoir accepté de juger notre travail

Nous tenons à exprimer tout au fond de nos cœurs les reconnaissances à nos familles qui nous ont offert toujours un appui sur leurs encouragements

A tous ceux qu'ont contribués de loin ou de prés a la réalisation de ce travail

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédie ce modeste travail:

A la lumière de ma vie et les plus chères au monde, mon père et ma mère, source intarissable d'amour, de tendresse et de sacrifice. Que Dieu les protège et les entoure de sa bénédiction ;

A ma chère sœur : GHANIA

A mes chères frères MOHAMED ; RABAH ET MOURAD

A toute mes oncles ;

A mon binôme ; chère amie ZAKIA et sa famille.

A tous mes ami (es) ; THAFSOUTH, SOUMIA.

A toutes mes copines a TAMDA

A toute la promotion de traitement et valorisation des ressources hydriques.

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

NASSIMA

© Ladie Lynn
http://ladielynn.com

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédie ce modeste travail:

A la lumière de ma vie et les plus chères au monde, mon père et ma mère, source intarissable d'amour, de tendresse et de sacrifice. Que Dieu les protège et les entoure de sa bénédiction ;

A mon grand père et ma grand-mère, aux quelles je souhaite une longue vie ;

A ma petite coquette adorée : MAYA

A mes chères frères AHCENE et HOCINE

A toute ma grande famille, oncles, tantes et cousins (es) ;

A mon binôme ; chère amie NASSIMA et sa famille.

A tous mes ami (es) ; FARROUDJA, AMEL, NAIMA, LILIA et Hayet.

A toutes mes copines a TAMDA

A toute la promotion de traitement et valorisation des ressources hydriques.

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

Zakia

© Ladie Lynn
http://ladielynn.com

Table des matières

Remerciement
Dédicaces
Liste d'abréviations
Liste tableaux
Liste des figures
Introduction.....**1**
Chapitre I : Etude bibliographique 4
1. Généralités sur la spiruline.....4
1.1. Définition de la spiruline 4
1.2. Composition chimique ……..…….5
1.2.1. Protéines ……..5
1.2.2. Glucides……..……6
1.2.3. Lipides ……..……..…….....6
1.2.4. Minéraux et oligo-éléme……..……..…6
1.2.5. Caroténoïdes……..……..……..……...7
1.2.6. Phycocyanine……..……..…….....7
1.3. Utilisation……8
1.3.1. Alimentation humain……..…8
1.3.2. Alimentation animale.....8
1.3.3. Cosmétique……..9
1.3.4. Agroalimentaire……..……..…9
1.3.5. Biotechnologie……..…….....9
1.3.6. Environnement……..……9
1.3.6.1. Traitement des effluents……..…...10
1.3.6.2. Dépollution de l'air et de l'eau ……..……..10
1.4. Culture de spiruline……...11
2. Généralités sur les algues……..…13
2.1. Définition ……..……..…..13
2.2. Classification……..……..……...13
2. 3.Grands groupes des algues……..……14
2.3.1. Cyanobactéries……...14
2.3.2. Rhodophycées……..…15
2.3.3. Phéophycées ……15
2.3.4. Chlorophycées…….....15
2.3.4.1. Ulvasp……16
1.4. Habitat des algues ……16
2.5. Utilisation…….....17

Chapitre II : Matériel et méthodes……18
2.1. Cadre de l'étude ……..……18
2.2. Matériel biologique……..……..…..18
2.3. Méthodes d'analyses ……..…19
2.3.1. Réactivation de la spiruline……...19
2.3.2. Préparation des milieux de culture……20
2.3.2.1. Préparation d'extrait algal ……..……..……20
2.3.2.2. Préparation de la solution de bois de figui……22
2.3.2.3. Échantillonnage de l'eau de mer …….....23
2.3.2.4. Optimisation des milieux de culture…….....23
2.3.2.5. Lancement de la culture ……...24
2.3.2.6. Méthodes d'analyses ……..…..…24
2.3.2.7. Analyse de la spiruline ……..……...……27

Chapitre III : Résultats et discussion ……...…29
3.1. Evolution du pH……...…….29
3.2. Evolution de la biomasse en spiruline …….……...…..30
3.3. Rendement en spiruline …….……...30
3.4. Caractérisation des spirulines issues des deux milieux M2 et M…….….31
3.5. Résultats d'analyse Infra-Rouge des poudres de spirulines …….....31
3.6. Evaluation des polyphénols totaux et flavonoïdes……..……....33
Conclusion générale ……...34
Références bibliographiques
Annexes

Listes des figures

Figure 01 : Aspect de spiruline sous microscope……...……....4

Figure 02 : Pourcentage moyen des protéines de la spiruline en comparaison aux différents produits alimentaires (Banks, 2007)……..….6

Figure 03 : Spiruline sous forme de bâtonnets…….....18

Figure 04 : Revivification de la spiruline en milieu liquide (eau bicarbonatée)……..19

Figure 05 : Aspect du culot obtenu après centrifugation et inoculum …….....20

Figure 06 : Aspect *ulva sp* observée sous le microscope photonique (G400)…….....21

Figure 07 : Etapes de préparations d'extrait algal……...21

Figure 08 : Cendres de bois de figuier…….22

Figure 09 : Préparation de la solution de cendres de bois de figuier ……..22

Figure 10 : Lancement de la culture ……...24

Figure 11 : Diagramme de dosage des polyphénoles totaux (Singleton *et* Rossi,1965)……..26

Figure 12 : Méthodes respectées pour le dosage des flavonoïdes (Kosalec *et al*, 2004)…....27

Figure 13 : Variation de pH des deux milieux de culture M2 et M4 en fonction du temps à 37°C ……....29

Figure 14 : évolution de la biomasse en spiruline dans les deux milieux M2 et M4 en fonction du temps à 37°C……..…30

Figure 15 : Résultats d'analyse IR des poudres de spirulines issues des deux milieux M2 et M4…….……32

Liste des tableaux

Tableau I : Composition de la spiruline en minéraux (teneur mg/kg) (Flaquet et Hunri, 2006)…….7

Tableau II : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Géraldine et Céline, 2009)…….14

Tableau III : Composition des milieux de culture préparés……..23

Tableau IV : Culture de spiruline dans les deux milieux M2 et M4 ……..…..24

Tableau V : Rendements en spirulines issues des milieux de culture M2 et M4……....34

Tableau VI : Résultats de la chlorophylle totale et de la phycocyanine des spirulines obtenues……....31

Tableau VII : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait brut d'Ulva sp……...33

Les abbreviations

AND: Acide Désoxyribonucléique

FAO: Food and agriculture organisation of United Nations

IR : Infra-rouge

pH: potentiel hydrogéne

USA: united States of America

Introduction

La spiruline (*Arthrospira platensis)* est l'une des premières formes de vie sur la planète terre. On parle d'algue, mais c'est plus précisément une cyanobactérie, c'est-à-dire une bactérie réalisant la photosynthèse. L'origine de la terre remontant à 4,5 milliards d'années, les cyanobactéries apparurent vers 3,5 milliards d'années (Gelin ,2015).

L'Algérie fait partie des rares pays dans le monde cultivant de la spiruline, une algue riche essentiellement en protéines et qui est devenue l'une des ressources d'une importance stratégique. Les USA 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.

L'investissement pour la construction d'une petite ferme de production d'une tonne de spiruline est estimé à 323 000 euros. En Algérie, on assiste à une production artisanale et expérimentale. L'unique Algérien qui connaît parfaitement le processus de production de cette espèce d'algue s'appelle Hiri Abdelkader. Il a réussi à faire déplacer la culture de cette microalgue de son environnement naturel (El Guelta) vers un bassin. Il dispose d'un bassin d'une superficie légèrement au-dessus de 20 m^2 et produit 20 kg de spiruline sèche par an. C'est dans la région de Tamanrasset que cela se passe. Quatre mois après l'ensemencement du bassin, on peut déjà récolter la spiruline.

Le kilogramme de spiruline est vendu sur le marché mondial à 560 euros. Les principales fermes de production de spiruline se trouvent aux USA (Californie et Haïti), en Thaïlande et en Chine.

La spiruline a besoin d'une eau saumâtre et d'une température qui varie entre 35 et 40°C. Sa récolte au mètre carré peut atteindre jusqu'à 10 g. La spiruline avait attirée les industriels qui avaient réussi à fabriquer avec cette algue des produits parapharmaceutiques, des aliments pour le bétail et les poissons élevés dans les aquariums.

Dans les pays industrialisés, elle est vendue en gélules et en comprimés. C'est un complément alimentaire pour les personnes victimes de la malnutrition, de la fatigue, de l'anémie, du goitre endémique. D'ailleurs, l'élite sportive chinoise consomme de la spiruline, qui demeure un apport de fortifiant de qualité pour les sportifs. La spiruline est une ressource alimentaire d'origine végétale de qualité, qui a été utilisée par les grands éleveurs de bétail, pour éviter la maladie de la vache folle.

En Algérie, dans l'attente de la mise en place des unités de production et de transformation de cette espèce d'algue, on se contente de la commercialiser et de l'exporter à l'état brut en dépit d'une faible production. La demande du marché mondial ne cesse d'augmenter.

La culture de la spiruline en Algérie est en mesure d'encourager la création des petites entreprises dans le cadre des dispositifs de prise en charge des citoyens sans emplois, au Sahara algérien. L'avantage pour notre pays, c'est que les coûts de l'investissement et de la production sont insignifiants en raison de l'environnement naturel et des conditions climatiques du sud du pays, de la disponibilité des matériaux à l'échelle nationale et le coût pas du tout élevé de la main-d'œuvre, notamment pour les Algériens qui résident dans le sud du pays.

Au niveau de l'Afrique la production est de caractère « artisanal » et elle est souvent à des fins humanitaires. Les pays producteurs sont notamment le Burkina Faso, la République Centrafricaine, le Sénégal, le Cameroun, le Bénin, le Niger et Madagascar (il existe aujourd'hui plus de 40 fermes en Afrique).

La production mondiale est généralement une production « hors-sol » industrielle moderne (ex : aux Etats-Unis, en Chine). Mais il n'y a pas de données fiables sur cette production spécifique. Les statistiques FAO (FishStat) indiquent que, la production en Chine était de 19 080 tonnes en 2003 et a drastiquement augmentée en 2004 pour atteindre 41 570 tonnes, atteignant une valeur de 7,6 millions de dollars en 2003 et 16,6 millions de dollars en 2004, ces données sont peu sûres et certains spécialistes estiment plutôt la production mondiale de spiruline à 8000 tonnes.

Dans le monde il existe plusieurs types de production de spiruline mais ce n'est qu'au Tchad que cette opportunité est naturelle et unique et que les femmes l'ont saisie et exploitée depuis des générations (Boittin et al 2013).

Le présent travail est organisé en plusieurs parties:

- Une synthèse bibliographique représentant la première partie décrit des généralités sur la spiruline et les algues marines.
- La deuxième partie de notre étude, illustre le matériel biologique utilisé et les méthodes utilisées.
- Dans la troisième partie, les résultats sont exposés et discutés.
- L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir.

1. Généralités sur la spiruline

1.1. Définition de la spiruline

Spirulina (Figure 01) est une cyanobactérie, filamenteuse, multicellulaire, qui représente le micro-organisme photosynthétique le plus abondant et commun des lacs Saumâtres de l'Afrique centrale et du Mexique. Elle est consommée depuis les Temps les plus anciens par certaines populations limitrophes du lac Tchad. Ce microorganisme a la particularité de posséder une teneur élevée en protéines, qui peut dépasser 60% du poids sec de l'algue. De plus, plusieurs propriétés utiles caractérisent cette cyanobactérie, à savoir la présence de vitamine B1, de ß carotène, d'acides gras insaturés (acide linoléique) et d'une protéine bleue fluorescente alimentaire: la phycocyanine, qui constitue une source prédominante de stockage d'azote.

Cette micro-algue a fait l'objet de nombreuses études dans plusieurs pays. Mais, l'inconvénient de sa culture en masse est la préparation du milieu de culture synthétique, milieu Zarrouk. Ce milieu nécessite des éléments minéraux très coûteux et à une concentration importante (Ould Bellahcen et al, 2013).

Figure 01 : aspect de spiruline sous microscope

Selon Charpy et *al* (2008), la spiruline est une cyanobactérie (anciennement désignée par le terme « algue bleue » puis cyanophycée). Elle appartient donc au domaine des bactéries*(*Bacteria*)* et se classe parmi les bactéries Gram négatif.

Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires. On les classe selon Ripley Fox (1999) dans :

- Règne : *Monera*
- Groupe Ou Sous Régne : *Procaryotes*
- Embranchement : *Cyanophyta*
- Classe : *Cyanophyceae*
- Ordre : *Nostocales (=Oscillatoriales)*
- Famille : *Oscillatoriaceae*
- Genre : *Oscillatoria*
- Sous Genre : *Spirulina*
- Sous Genre :***Arthrospira***

1.2. Composition chimique

Selon la composition, la spiruline constitue une grande richesse nutritionnelle se décompose de :

1.2.1. Protéines

La spiruline constitue une Fabuleuse source de protéines. Elles représentent 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche. Ce pourcentage est bien plus élevé que celui du poisson (25%), du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%) (Sall et al, 1999).

Les protéines de la spiruline apportent à l'organisme la quasi-totalité des acides aminés essentiels, ce qui en fait un aliment indispensable pour les végétariens.

En termes de nutrition, la spiruline détient de nombreux records (Banks, 2007).

La figure 02 montre le pourcentage moyen des protéines de la spiruline et des différents produits alimentaires :

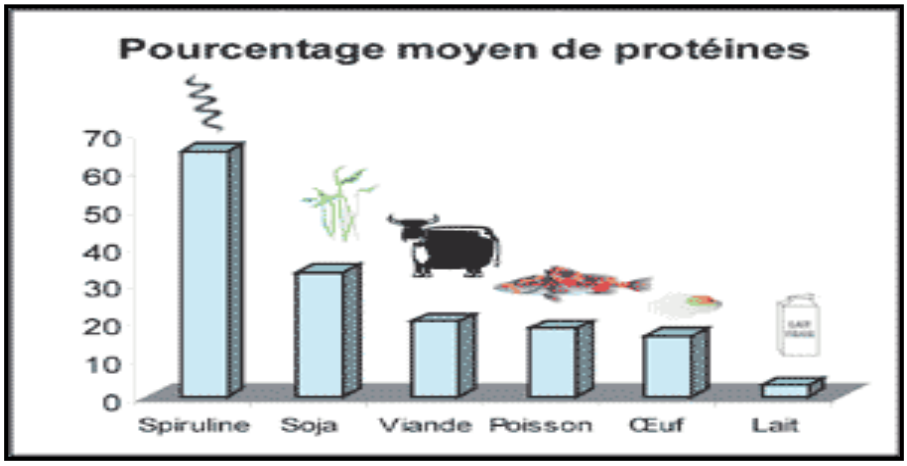

Figure 02 : pourcentage moyen des protéines de la spiruline en comparaison aux différents produits alimentaires (Banks, 2007).

1.2.2. Glucides

Constituent entre 15 et 25% de la matière sèche de la spiruline, les glucides simples sont en très faible quantité, ce qui est plutôt un avantage sur le plan diététique.

La spiruline contient par ailleurs du mésoinositol phosphate, excellente source de phosphore organique. Les polysaccharides de la spiruline présentent de multiples intérêts thérapeutiques, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN, dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres (Christophe ,2010).

1.2.3. Lipides

Les lipides représentent généralement de 6 à 8% du poids sec de la spiruline mais ce pourcentage peut atteindre 11% (Charpy et *al*, 2008).

1.2.4. Minéraux et oligo-éléments

Selon Christophe, (2010) plusieurs minéraux sont présents dans la spiruline dont les plus intéressants sont le fer, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

La présence de fer bio-disponible est à souligner, le fer présent dans les autres végétaux n'étant pas assimilable par l'homme. Il est à noter également la présence de sélénium et de fluor, connus par leurs effets positifs (lutte contre les radicaux libres, prévention de la carie dentaire).

Le tableau I montre la composition de la spiruline en minéraux

Tableau I : composition de la spiruline en minéraux (teneur mg/kg) (Flaquet et Hunri, 2006)

Minéraux	Teneur de la spiruline mg /kg
Calcium	1300-14000
Phosphore	6700-9000
Magnésium	2000-4000
Fer	**600-6000**
Zinc	21-6000
Cuivre	8-2000
Chrome	2-8
Sélénium	0.01-5
Manganèse	25-37
Sodium	4500
Potassium	6400-15400

1.2.5. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont composés à 80% par le bêta-carotène avec un taux vingt à vingt-cinq fois plus que celui de la carotte.

De couleur orange, ils sont utilisés en alimentation animale (pisciculture, aquaculture, aviculture pour colorer les écailles et chairs), en alimentation humaine (colorant alimentaire, bronzage). Ils constituent une source de vitamine A.

La spiruline est plus concentrée en caroténoïdes, ces derniers constituent une barrière contre les radicaux libres responsables du vieillissement de la peau (Morin et *al*, 2014).

1.2.6. Phycocyanine

D'après Didier (2010), la phycocyanine représente de 10 à 15 % du poids sec de la spiruline.

Un pigment de nature protéique hydrosoluble, de couleur bleue appartenant à la famille des phycobiliprotéines. C'est un pigment accessoire à la chlorophylle qui capte environ 50% de la lumière photosynthétique.

Cet extrait présente des activités anti-oxydante et anti radicalaire. Il est également considéré comme agent détoxifiant et revitalisant. La phycocyanine est une molécule fluorescente vers les longueurs d'ondes 635nm.

Cette fluorescence est utilisée comme un marqueur naturel dans des applications médicales et autres telle que la méthode immuno-enzymatique et, immuno-diagnostique. Cependant, la phycocyanine est un pigment très instable car il est photo et thermo- sensible qui se dégrade rapidement (Ben slimane et al, 2015).

1.3. Utilisation

De part sa composition, la spiruline nous offre plusieurs filières d'applications. Cette algue bleue microscopique se développe dans les régions tropicales et subtropicales possédant de multiples utilités: agro-alimentaire, pharmaceutique, écologique et biotechnologique.

Elle attire de plus en plus l'attention des scientifiques. De nombreuses études ont montré des effets positifs de sa consommation sur la santé humaine et animale.

Elle apparaît comme une algue de l'espoir qui aura un rôle de premier plan à jouer pour relever le défi alimentaire et pour servir de remède à certaines maladies qui touchent en particulier les pays en voie de développement (Razafindrajaona et *al* ,2008).

1.3.1 Alimentation humaine

Selon Sawadogo et *al.* (2004), la composition chimique de la spiruline et sa valeur nutritionnelle exceptionnelle découlent de multiples applications thérapeutiques dont le traitement des carences nutritionnelles.

Dans les pays développés, et depuis peu dans quelques régions d'Afrique, la spiruline est consommée comme complément alimentaire « bénéfique à la santé ».

1.3.2 Alimentation animale

L'utilisation des algues pour nourrir le bétail est un savoir-faire ancien. On rapporte même en Bretagne que, le bétail se rendait lui-même à marée basse près du rivage pour brouter les algues échouées.

Des chemins étaient aménagés pour faciliter l'accès aux animaux à ces ressources. Cet usage des algues est reconnu dans toute l'Europe du nord, sur les côtes en particulier et les îles. Diverses préparations à base d'algues et d'avoine, par exemple, ont existé.

Aujourd'hui, les éleveurs se trouvent confrontés à un problème d'autonomie en protéines que, la spiruline pourrait résoudre. En effet, dans les systèmes intensifs, l'apport de protéine se fait via le soja, importé du Brésil et des Etats-Unis et souvent génétiquement modifié.

Même dans les systèmes herbagers, les éleveurs se trouvent confrontés au même problème durant les 3 mois d'hiver.

La spiruline, pourrait être un complément alimentaire de qualité (Benahmed djilali et *al* 2011), et produit localement. On pourrait notamment imaginer de valoriser la spiruline de second choix (grumeaux, balayures), dans l'alimentation des animaux : poules pondeuses, poulets, vaches chevaux de course, poissons, crustacés, larves de crevettes, etc.

Elle améliore leur santé, leur apparence, leur qualité ou leurs performances (Banks, 2007).

1.3.3 Cosmétique

En cosmétique, la spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus, elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique (Charpy et *al*, 2008).

1.3.4 Agroalimentaire

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

En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline et des produits algaux (Charpy et al, 2008).

1.3.5 Biotechnologie

Un exemple d'application des cyanobactéries en biotechnologie est celui de la production de bioplastiques.

En effet, plusieurs souches de cyanobactéries (comme exemple la bien connue spiruline) peuvent accumuler des polyhydroxyalkanoates, qui peuvent être utilisés comme un substituant aux plastiques d'origine pétrochimique non biodégradables (Person, 2011).

1.3.6 Environnement

L'utilisation des micro-algues (spiruline) dans le secteur de l'environnement s'intègre dans une optique de dépollution avec pour idée de transformer nos déchets en produits, comme par exemple le traitement des eaux usées chargées en nitrates, phosphates, l'épuration d'effluents gazeux contenant du CO_2 mais aussi divers oxydes NO_x, SO_x, et la bioremédiation possible des sites pollués (Person, 2011).

1.3.6.1 Traitement des effluents

Les micro-algues sont utilisées depuis des décennies pour le traitement des eaux usées : il s'agit du lagunage, système extensif de traitement des eaux, apparenté à un processus naturel de biodégradation en milieu aqueux.

1.3.6.2 Dépollution de l'air et de l'eau

La spiruline est un grand pourvoyeur d'oxygène. Les forêts jouent un rôle important dans le stockage du gaz carbonique (CO_2). Les arbres sont les meilleurs végétaux pour fixer le carbone : de 1 jusqu'à 4 tonnes par an et par hectare.

Cette micro algue reste plus efficace: dans le désert californien, 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).

De même, elle est utilisée dans les systèmes d'épuration, cas du système d'aération a été réalisé en Equateur permettant de digérer la matière organique accumulée dans les milieux de culture. On passe ainsi d'une DBO (Demande Biologique en Oxygène) de 15mg à une DBO de 8mg.

Ce système d'aération permet un recyclage total du milieu de culture, tout en maintenant une haute productivité des bassins.

Autre exemple : citant la ferme Earthrise (Californie), l'eau est recyclée dans les bassins après les opérations de filtrage et d'essorage. En fait, les pertes significatives d'eau se font par évaporation.

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, et seulement 2% de l'eau exigée par la protéine de bœuf. Dans ce cas, seulement 30 litres sont nécessaires pour produire 10 grammes de Spiruline.

C'est en fait beaucoup moins que les 55 litres d'eau requis pour une demi-baguette de pain, les 245 litres pour un verre de lait, ou les 4900 litres pour un hamburger. 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), et atteint une fois de plus un record (Jessica banks,2007).

D'autre travaux sur l'utilisation de la spiruline comme « bio-adsorbant » pour l'épuration des milieux contaminés en métaux lourds montrent une forte capacité de la spiruline à fixer certains poly-cations, parmi lesquels le cadmium, le plomb, le chrome et le cuivre (Falquet et Hunri, 2006).

1.4. Culture de spiruline

La spiruline peut être obtenue en milieu naturel ou semi-naturel et en culture synthétique contrôlée pour une production à diverses échelles (depuis la micro-production familiale jusqu'aux installations semi-industrielles).

En milieu naturel, la spiruline comme les végétaux ont besoin de nutriments minéraux simples pour se développer. Seule la forme minérale est directement assimilable et permet leur multiplication cellulaire.

Ce sont les êtres autotrophes, le milieu dans lequel la spiruline est cultivée doit être exempt de matières organiques en suspension et/ou de résidus chimiques.

Dans son milieu naturel (lacs ou lagunes), la spiruline suit les conditions climatiques, prospérant à la saison chaude et se réfugiant au fond de l'eau dans l'argile qui tapisse les fonds en période de froid. Il existe plusieurs souches de spiruline, certaines dites ondulées, d'autres dites spiralées, en provenances du monde entier : Paracas (Pérou), Lonar (Inde), du lac Tchad.

Pour pouvoir cultiver la spiruline, il faut reproduire artificiellement son milieu de vie, et créer les conditions nécessaires à son développement : bassins sous serre pour la chaleur, ombrage et systèmes d'agitation (pour éviter les coups de soleil) par roues à aubes ou par pompes, alcalinité, etc.

Il existe de multiples systèmes qui permettent de récolter et de sécher la spiruline à basse température pour conserver toutes ses propriétés. Selon l'latitude, les producteurs peuvent cultiver toute l'année ou seulement une partie.

L'aquaculture de spiruline requiert dix fois moins d'eau que n'importe quelle autre production, pour un rendement protéique à l'hectare (30 à 50 tonnes) quinze fois supérieur au soja (2,5 tonnes). Elle nécessite vingt fois moins d'eau que pour une culture céréalière, et 100 fois moins que l'élevage bovin intensif pour un rendement protéique cent fois supérieure (0,16 tonnes de protéines à l'hectare pour l'élevage).

La spiruline est cultivée sans aucun fongicide, herbicide, pesticide. Son rendement à l'hectare est très élevé. Cette micro-algue est productrice d'oxygène, sa culture n'émet pas de gaz à effet de serre (GES) ; au contraire, elle consomme environ 40 tonnes de CO_2 par hectare et par an (Gellin, 2015).

La spiruline croit naturellement dans les lacs alcalins contenant du carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou de bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$) (Tabutin et *al*, 2002).

La première culture artisanale de spiruline méritant vraiment cette appellation revient sans doute à Fox qui fut le premier à lancer cette activité en Inde en 1973, en collaboration avec le Navsari Agricultural College.

Depuis, maints progrès ont été faites pour permettre et améliorer son exploitation dans toutes les régions du monde, à petite échelle. Ces micro-projets sont en partie financés par des associations de lutte contre la malnutrition (Elyah, 2001).

La spiruline a besoin d'une eau alcaline avec un pH compris entre 8,5 et 11 riche en azote et en carbone et d'une température compris entre 25 et 40 °C (Pons, 2010).

Le pH élevé du milieu de culture empêche la prolifération d'autres espèces et de bactéries pathogènes (Charpy et *al* ,2008). Pour que la spiruline ait accès à la lumière et à l'oxygène, un système d'agitation est obligatoire (Banks, 2007).

Les systèmes de production semi-industrielle et industrielle se différencient par l'ordre de grandeur de l'investissement, la surface des bassins de culture, le tonnage de production, et la sophistication des techniques de production.

Toutefois, le cout de production de spiruline en milieux artificiels est souvent très élevé entrainant un prix de vente hors de portée de la population, surtout celle touchée par la malnutrition. Ce micronutriment est classé en premier rang des compléments alimentaires (Charpy et *al* ,2008).

2. Généralités sur les algues

2.1. Définition

Les algues, *phycophytes* (de gr *phukos*= algue *; phuton*=plantes), sont des *thallophytes* chlorophylliens, c'est-à-dire des organismes capables de photosynthèse. Elles sont donc autotrophes. Les algues sont, typiquement aquatiques (Roland et *al*, 2008).

Dés lors , ce groupe englobe des *thallophytes* dont la structure cellulaire est incomplète, notamment par l'absence de véritable noyau *(procaryote)* et des thallophytes dont les cellules comporte tous les constituants habituels, en particulier un noyau bien individualisé (*eucaryote*) (Gayral, 1975).

2.2. Classification

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture.

En effet, les algues sont un groupe d'organismes très diversifiés qui varient en forme et en grosseur : unicellulaire, multicellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplaste (Memory, 2006).

Tableau II : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Géraldine et Céline, 2009).

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500	Chlorophylle (a, b) Xanthophylles Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues brunes	1500	Chlorophylle (a, c) Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues rouges	3900	Chlorophylle (a, b) Xanthophylles Carotène Zéaxanthine Phycocyanine C Phycoérythrine
Phéophytes (plantes)	Algues bleues	15000	Chlorophylle (a) Allophycocyanines Phycocyanine Phycoérythrine Phycoérythrocyanine

2.3. Grands groupes des algues

2.3.1. Cyanobactéries

Les cyanobactéries appelées Cyanophycées ou algues bleues, sont des microorganismes aquatiques qui présentent à la fois des caractéristiques provenant des bactéries et des algues.

Les cyanobactéries sont présentes de façon naturelle dans les milieux aquatiques. Leur présence devient problématique lorsque certaines espèces se multiplient rapidement et forment une masse visible à l'œil nu (à la surface ou dans l'eau) que l'on nomme fleur d'eau Leur taille varie beaucoup selon les espèces, certaines, filamenteuses, peuvent former des filaments unicellulaires dépassant un mètre de long. D'autres espèces forment des biofilms en feuillets, coussins ou colonnes (Houriet, 2015).

2.3.2. Rhodophycées

Les algues rouges sont d'ordinaire de plus petite taille, leur longueur allant d'habitude de quelques centimètres à environ un mètre; toutefois, les algues rouges ne le sont pas toujours leur couleur est parfois pourpre, même rouge brun, mais les botanistes les classent néanmoins parmi les Rhodophycées en raison de leurs autres caractéristiques.

2.3.3. Phéophycées

Les algues marines brunes atteignent généralement de grandes dimensions, allant du varech géant, qui a souvent 20 m de long, à des algues épaisses, semblables à du cuir, mesurant de 2 à 4 m de long, et à des espèces plus petites, d'une longueur de 30 à 60 cm.

2.3.4. Chlorophycées

Les algues vertes appartiennent à un vaste ensemble, les chlorobiontes (*chlorobionta*), des organismes de couleur verte car ils contiennent de la chlorophylle.

Les chlorobiontes contiennent deux infrarégnes : les chlorophytes qui incluent les algues vertes marines et une grande partie d'eau douce comme les cladophores, et aériennes, et les stréptophytes qui comprennent des algues d'eau douce ou aériennes mais aussi les embryophytes. D'un point de vue phylogénétique les embryophytes sont des algues vertes adaptées à la vie terrestre.

Les algues vertes ont des chloroplastes qui contiennent les chlorophylles a et b, en leur donnant une couleur vert vif, ainsi que les pigments accessoires béta-carotène et xanthophylles.

Les parois cellulaires des algues vertes contiennent habituellement de la cellulose et elles stockent des glucides sous forme d'amidon.

Les algues vertes sont des organismes eucaryotes suivant un cycle de reproduction appelé alternance des générations.

L'envahissement d'un biotope par les algues vertes est souvent synonyme de pollution avec une trop grande concentration de nitrates et /ou phosphate.

Les membres de la classe *chlorophycée* subissent une mitose fermée sous la forme la plus courante de la division cellulaire, chez les algues vertes qui se produit par l'intermédiaire d'un phycoplaste.

2.3.4.1. Ulvasp

Ulva : algue verte dont le thalle est une mince lame formée de deux assises cellulaires (Roland, 2008).

Les espèces d'ulves *(Ulva)* sont reproductivement isomorphes la phase végétative diploïde est le site de la méiose et libère des zoospores haploïdes qui germent et poussent dans une phase haploïde en alternance avec la phase végétative.

- **Taxonomie**
  - *Ulva sp*
  - Ordre : *ulvales*
  - Famille *: ulvacées*
  - Genre : ***ulva***

- **Propriétés**

Ulva sp est une algue qui présente plusieurs propriétés :

- Prévention des pathologies.
- Régulation du taux de cholestérol.
- Prévention des risques cardiovasculaires.
- Activités antithrombique et antitumorale.
- Stimulation des défenses immunitaire (chez les poissons et plantes).
- Activité anti-oxydante.

2.4. Habitat des algues

Selon les groupes et les espèces, les algues sont capables de coloniser presque tous les milieux. Elles se rencontrent des eaux presque pures aux eaux surchargées en minéraux, des eaux thermales aux glacées, des eaux acides ou alcalines, ainsi que dans le milieu terrestre.

En milieu aquatique, elles peuvent être planctoniques (en suspension dans l'eau et incapables de mouvements propres suffisants pour résister à ceux des masses d'eau) ou benthiques (fixées ou en relation étroite avec le fond).

Un même groupe d'algues peut être significativement représenté à la fois dans le plancton et le benthos (les algues vertes, les diatomées) ou être très majoritairement planctonique (les haptophytes) ou presque exclusivement benthique (les algues rouges et brunes).

Les algues peuvent aussi être aériennes, se développer sur ou dans des végétaux ou des animaux, aquatiques ou terrestres (Reviers, 2016).

2.5. Utilisation

Plusieurs parties du monde sont bien connues pour consommer les algues directement, certains peuples autochtones d'Afrique, d'Amérique du Sud et du Mexique en consomment de petites quantités d'origine naturelle principalement pour un apport en vitamines et éléments nutritifs.

Moins connue du grand public, quelques ingrédients dérivés d'algues sont utilisés dans la préparation des aliments. On y retrouve généralement des acides gras polyinsaturés, des pigments comme colorants naturels, des antioxydants, et des composés bioactifs.

En plus de la nourriture, les algues fournissent une grande variété de vitamines, nutraceutiques et autres nutriments.

Les produits alimentaires pour la santé dominent actuellement le marché des micro-algues. Une grande variété d'algues et de produits issus des algues ont montré des applications médicales ou nutritionnelles.

En 1996, au Japon seulement, la consommation d’aliments pour la santé issus de micro-algues s’élèverait à 2 400 tonnes (Person, 2010).

2.1. Cadre de l'étude

La présente étude rentre dans le cadre de projet de recherche de notre promotrice Melle BENAHMED DJILALI adiba visant la valorisation de divers substrats agricoles locaux afin d'obtenir une spiruline bio à faible cout.

Pour cela, nous nous sommes intéressées à étudier la culture de l'espèce *Spirulina platensis* d'origine de Burkinafaso dans divers substrats locaux (l'eau de mer, l'extrait d'algue marine et la solution de cendres de bois de figuier) a l'échelle de laboratoire.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Traitement des Eaux et Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou durant une période entreprit du mars au mai 2017.

Concrètement le travail a été réalisé comme suit :

1 .Préparation des milieux de culture

2. Optimisation des milieux de culture

3. Réactivation de la spiruline

4. Lancement de la culture

5. Evaluation des paramètres de la culture

2.2. Matériel biologique

La spiruline *(Spirulina platensis)* dont on dispose est une micro algue en forme de bâtonnets secs (Figure 03) cette espèce provient de Burkina-Faso (commercial).

Figure 03 : spiruline sous forme de bâtonnets

Les bâtonnets sont broyés afin d'obtenir une poudre de spiruline.

2.3. Méthodes d'analyses

2.3.1. Réactivation de la spiruline

La réactivation (revivification) de la spiruline en poudre est une étape préliminaire qui a pour objectif d'obtenir des filaments mono algaux utilisés comme inoculum pour la culture ultérieure (Benahmed Djilali, 2012).

La purification des filaments peut se faire soit en milieu liquide soit sur milieu solide. En effet, la purification sur milieu solide est très peu utilisée car il est difficile d'isoler les spirulines sur milieu solide sans savoir la structure des autres algues.

De plus, la morphologie de la spiruline change selon les conditions de culture (c'est une souche polymorphe) (Benahmed Djilali, 2012**)**. C'est pour cette raison la réactivation en milieu liquide a été choisie.

- **Revivification en milieu liquide (eau bicarbonatée)**

Lors de la revivification de la souche dans l'eau bicarbonatée, les filaments se détachent les uns des autres, les grains de sables et autres débris solides se déposent au fond de la fiole (Figure 04). Le milieu se colore en vert bleu dû au pigment extracellulaire de la spiruline, en particulier la phycocyanine C-PC (Benahmed Djilali, 2012).

Figure 04 : Revivification de la spiruline en milieu liquide (eau bicarbonatée)

- **Mode opératoire**

Dans des conditions de stérilité absolue, on place 4 g de poudre dans un erlenmeyer de 250 ml et on ajoute la solution de bicarbonate à 4% pré-stérilisée, ensuite on mélange jusqu' à l'obtention d'un liquide homogène ;

Après incubation à 37°C pendant 48 h, on centrifuge, le surnageant est éliminé, puis le culot est récupéré, ensuite est lavé deux fois à l'eau physiologique stérile ;

Le culot ainsi obtenu est placé dans un erlenmeyer de 250ml de la solution de bicarbonate à 10% pré-stérilisée et tout cela devant un bec, puis on incube dans l'étuve à 37°C pendant 72h ;

Après incubation, on centrifuge, on élimine le surnageant, puis avec l'eau physiologique stérile, le culot a été lavé deux fois. Après lavage, le culot est récupéré, puis ré-suspendu dans 100 ml d'eau physiologique (inoculum) (Figure 05), ensuite est mis à l'étuve à 37°C avant le lancement de la culture.

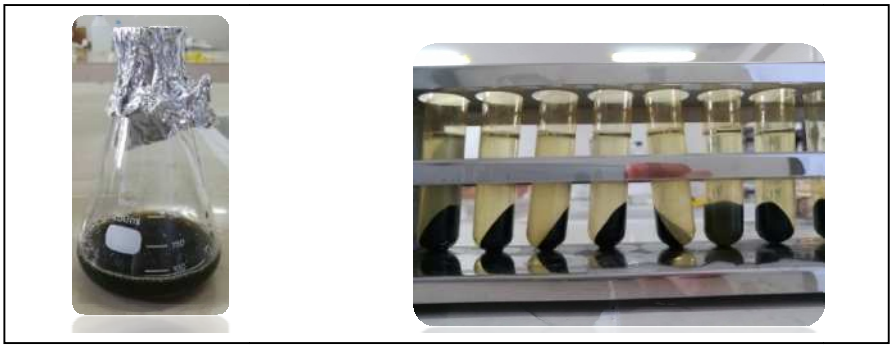

Figure 05 : aspect du culot obtenu après centrifugation et inoculum

2.3.2. Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture ont été préparés à base d'une solution composée de l'extrait d'algue marine (40g), la solution du bois de figuier (4g) et l'eau de mer.

2.3.2.1. Préparation d'extrait algal

- **Échantillonnage**

Une espèce d'algue marine verte a été récoltée sur le littoral de Tigzirt. Elle provient des eaux de surface où elle pousse sur des rochers peu immergés (étage supralittoral).

Cette espèce se caractérise par une couleur verte ou chlorophycophyte. Elle possède un appareil végétatif de type prothalle foliacé, avec des petits crampons de fixation à la base.

L'examen microscopique du thalle montre qu'il est bistromatique (formé de deux couches cellulaires superposées).

L'ensemble de ces caractères morphologiques et écologiques nous oriente vers une espèce du genre *Ulva (ulva sp)* (Figure 06).

Ulva : algue verte dont le thalle est une mince lame formée de deux assises cellulaires (Roland, 2008).

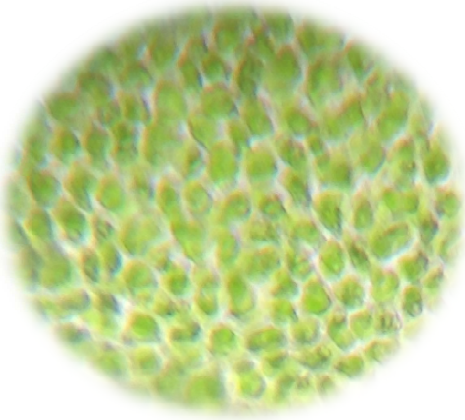

Figure 06 : aspect *ulva sp* observée sous le microscope photonique (G400)

- **Mode opératoire**

Un échantillon de 40g d'algues fraiches a été broyé et mélangé à l'eau distillée (100ml). L'homogénéisation est réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 10mn. Enfin, la solution obtenue est filtrée à l'aide d'un papier filtre Wattman pour récupérer le filtrat pour se servir d'extrait algal (Figure 07).

L'extrait ainsi obtenu est stérilisé par une tyndallisation à 60 C° puis sauvegarder au réfrigérateur (4C°à 10C°) pour la culture ultérieure.

a) b) c)

Figure 07 : étapes de préparations d'extrait algal

a) : broyat algal, b) homogénéisation, c) extrait d'algue filtré

2.3.2.2. Préparation de la solution de bois de figuier

Les cendres de bois (figuier) (Figure 08) utilisées comme une source d'alcalinité et une source minérale (Benahmed Djilali, 2012). Le bois de figuier est d'origine de la région de Draa el Mizan.

Figure 08 : cendres de bois de figuier

La solution de cendres de bois de figuier (Figure 08) a été préparée à raison de 4%. Un chauffage à 80°C a été réalisé à l'aide d'une plaque chauffante plus une agitation pendant 30min. Enfin, la solution est filtrée à l'aide d'un papier filtre Wattman et conservée pour usage ultérieure.

a) b) c)

Figure 09 : préparation de la solution de cendres de bois de figuier

a) : agitation et chauffage, b) filtration, c) extrait de la solution des cendres filtré

2.3.2.3. Échantillonnage de l'eau de mer

L'eau de mer utilisée a été échantillonnée des eaux de surface de littoral de Tigziret.

Cette eau est connue par sa richesse en sels minéraux (chlorure de sodium, magnésium, sels de calcium, des carbonates,..).

Généralement, la salinité moyenne de l'eau de mer varie entre 34g et 35g par litre (Bemard, 2004).

2.3.2.4. Optimisation des milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été préparés à base des trois ressources naturelles locales (l'eau de mer, l'extrait d'algue marine et la solution des cendres de bois de figuier) en appliquant le plan des mélanges (Tableau III). Le choix du meilleur milieu est basé sur l'alcalinité élevée (9 à11).

Tableau III : composition des milieux de culture préparés

Milieux	Extrait d'algues (ml)	Eau de mer (ml)	Solution de cendres de bois de figuier (ml)	pH
pH	6.95±0.076	8.07±0.075	11.24±0.131	
M1	50	25	25	8.78±0.101
M2	25	25	50	9.21±0.075
M3	25	50	25	8.75±0.076
M4	100	0	7	9.10±0.076

En se basant sur le critère d'alcalinité, deux milieux ont été retenus pour la culture (M2 et M4) possédant un pH préconisé pour la culture de spiruline.

Le milieu de culture M4 préparé à base d'extrait d'algue marine a été ajusté à un pH de 9,10.

2.3.2.5. Lancement de la culture

Les conditions respectées pour la culture de spiruline dans les deux milieux M2 et M4 sont résumées dans le tableau IV.

Milieu de culture M2	Milieu de culture M4
6 erlenmeyers contenant chacun 100ml du milieu M2 avec un pH=9,21 10ml d'inoculum de spiruline a été mis dans chaque culture.	6 erlenmeyres contenant chacun 100 ml avec un pH ajusté à pH 9,10 par addition de 7ml de la solution des cendres. 10ml d'inoculum de spiruline a été mis dans chaque culture.

Pour chaque milieu, trois erlenmeyers ont été incubés à l'étuve à 37°C. Alors que, les trois autres ont été laissés à température ambiante.

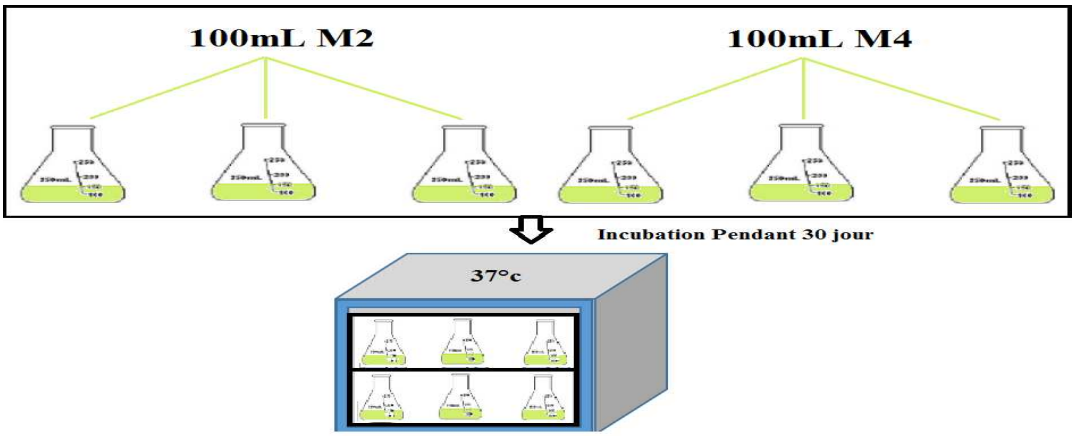

Figure 10 : lancement de la culture

2.3.2.6. Méthodes d'analyses

Des prélèvements ont été effectués afin de suivre la cinétique de production de la biomasse et les paramètres physico-chimiques à savoir le pH et le dosage colorimétrique de la phycocyanine.

- **Mesure du pH**

Le suivi du pH des milieux de culture a été déterminé à l'aide d'un pH mètre de type HI2209 préalablement étalonné.

- **Dosage de la phycocyanine**

Le dosage de la phycocyanine a été déterminé par colorimétrie selon la méthode décrite par Jordan (2006), en mesurant la DO à 620nm durant toute la période de culture (30 jours).

- **Analyse d'extrait algal**

Pour l'extrait algal nous avons mesuré le pH et la teneur en polyphénoles et les flavonoïdes

- **Mesure de pH**

Le pH d'extrait aqueux algal à 40% a été déterminé à l'aide d'un pH mètre de type HI2209 préalablement étalonné.

- **Détermination de la teneur en polyphénols**

  - ✓ **Principe**

  Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-cobalteux (Singleton *et* Rossi.1965).

  - ✓ **Mode opératoire**

  Le matériel végétal broyé (2g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (20 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés,

Le dosage des polyphénoles dans chaque extrait est adopté selon le diagramme suivant :

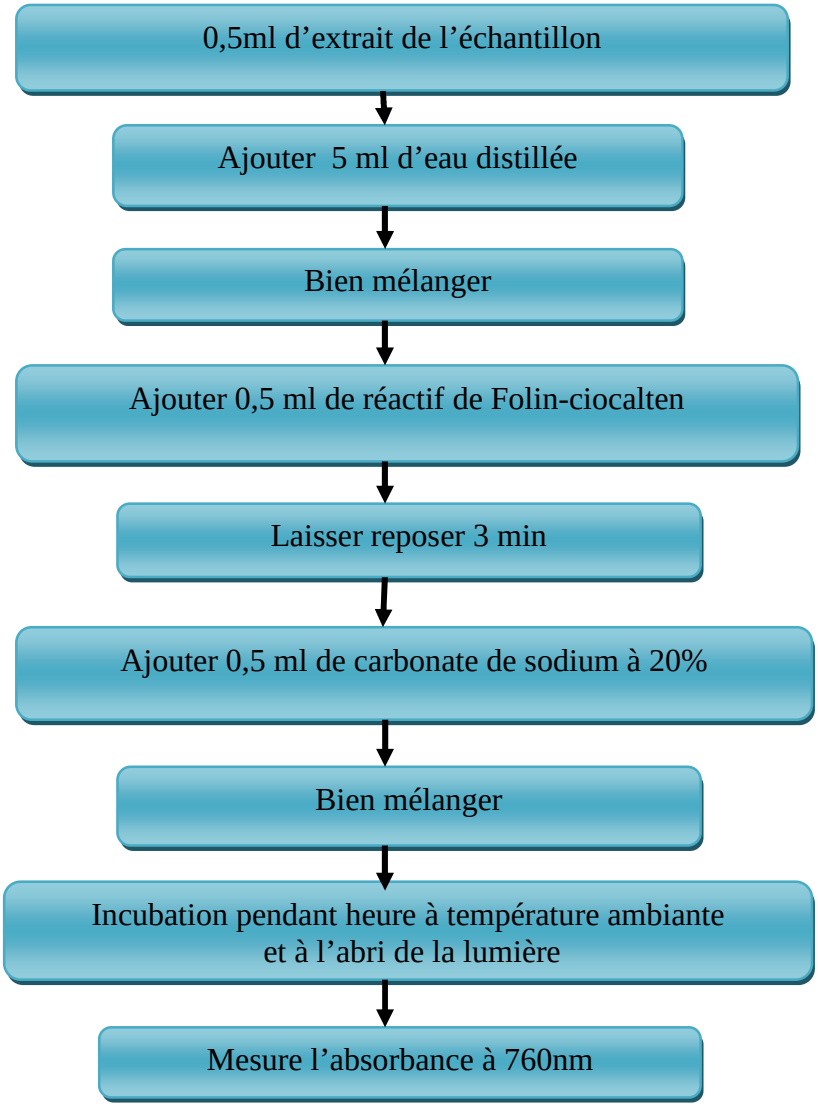

Figure 11 : diagramme de dosage des polyphénoles totaux (Singleton *et* Rossi,1965)

- **Détermination de la teneur en flavonoïdes**

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ **(**Kosalec*et al*, 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits obtenus.

Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser les flavonoïdes :

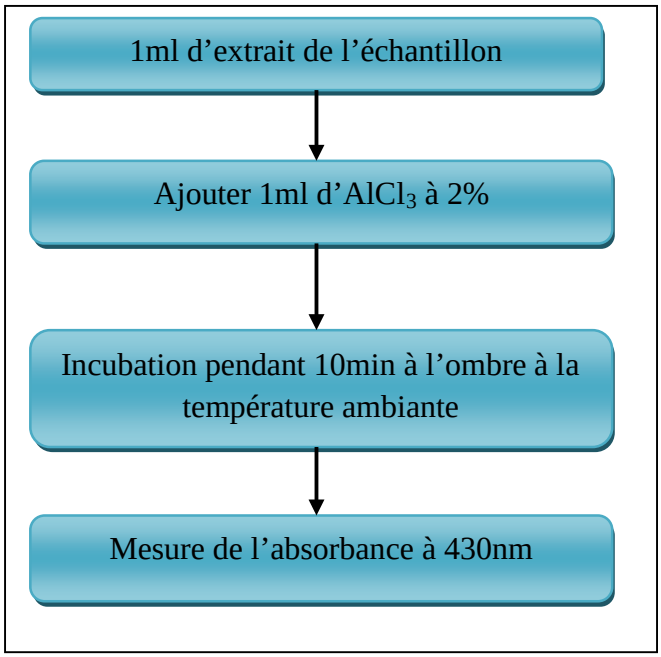

Figure 12 : méthodes respectées pour le dosage des flavonoïdes (Kosalec *et al*, 2004)

2.3.2.7. Analyse de la spiruline

- **Mesure de pH**

Le pH d'une solution de spiruline à 4% a été déterminé à l'aide d'un pH mètre de type HI2209 préalablement étalonné.

- **Rendement en spiruline**

En fin de culture, la biomasse est séparée du milieu de culture par centrifugation, puis lavée à l'eau physiologique stérile 2 fois pour éliminer un grand nombre de bactéries issues de fermentation.

La spiruline obtenue a été séchée à 40°C pendant 2 jours en utilisant une étuve pour avoir une humidité finale de 4%.

La poudre ainsi obtenue est acheminée vers une cuve de stockage ou dirigée vers une structure d'extraction de composés bioactifs.

- ✓ **Dosage de la chlorophylle**

La chlorophylle est quantifiée à une longueur d'onde de 660nm et à 642.5 (Ramesh, 2000). La quantité de chlorophylle totale est déterminée en utilisant la formule suivante :

$$\textbf{Chlorophylle totale} = 7{,}12 * DO_{660} - 16{,}8 * DO_{642,5}$$

- ✓ **Dosage colorimétrique de la phycocyanine**

La teneur en phycocyanine a été déterminée par colorimétrie en mesurant l'absorbance DO à 615 nm et DO à 652 nm préalablement centrifugée à 6000 tours mn (Jourdan, 2006).

Soit la concentration de spiruline sèche mise à tromper dans l'eau on détermine le poids de la phycocyanine par la formule suivante :

$$\textbf{Taux de phycocyanine} = 1{,}873 * (DO_{615} - 0{,}474 DO_{652}) * DIL/C$$

- ✓ **Analyse infrarouge des poudres de spiruline**

Les échantillons de poudres de spiruline (souches issues des milieux M2 et M4) ont été analysés par spectrométrie IR à transformée de fourrier de marque SCHIMATZU-8900 dans le but de montrer l'absorption des différents groupements fonctionnels et la présence de nouvelles substances. Cette analyse a été réalisée au niveau de l'Université de Boumerdes.

3.1. Evolution du pH

Nos expérimentations à 37°C ont montré une variation de pH au cours de toute la période de culture (30jours) dans les deux milieux M2 et M4. Au cours de cette période nous constatons que, le pH du milieu M2 est plus alcalin par rapport au pH du milieu M4 (Figure 13).

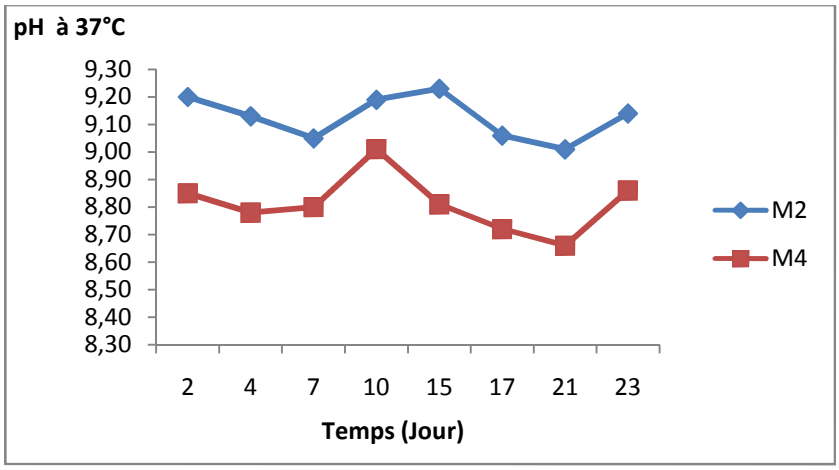

Figure 13 : variation de pH des deux milieux de culture M2 et M4 en fonction du temps à 37°C

Il est à signaler que, la possibilité de culture de *Spirulina platensis* dans l'eau de mer a été vérifiée en 2004 par Jarisoa. Cet auteur a démontré la faisabilité de culture de la spiruline malgache dans l'eau de mer.

En 2013 Benahmed Djillali, a confirmé la possibilité de culture de spiruline burkinabé dans une solution de l'eau de mer et les cendres de bois de figuier.

Une augmentation du pH sous entend une nutrition carbonée et par conséquent un accroissement de population de spiruline. L'oxydation de la matière organique diminue la teneur en oxygène de l'eau en produisant du CO_2 et par conséquent abaisse le pH ce qui est remarquable pour nos expérimentations.

La respiration plus intense libère de CO_2 dans le milieu, abaissant par conséquent le pH (FOX, 1986). Généralement, l'abaissement du pH s'explique par l'absence des nitrates ou des phosphates dans les milieux (Benahmed Djilali, 2012).

De même, en consommant les carbonates (CO_3H^-) et bicarbonates (CO_3^{--}) de son milieu, les spirulines tendent à augmenter encore l'alcalinité du liquide. Et c'est le cas de nos expérimentations.

3.2. Evolution de la biomasse en spiruline

Les résultats de l'évolution de la biomasse en fonction du temps dans les deux milieux M2 et M4 à 37°C sont présentés dans la figure suivante :

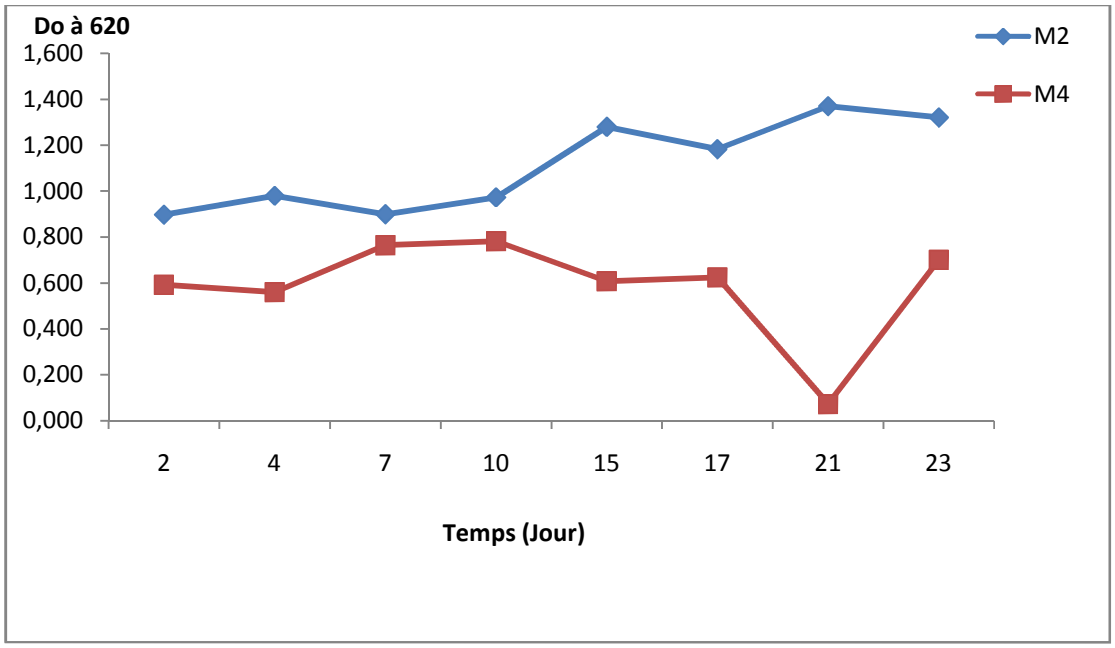

Figure 14 : évolution de la biomasse en spiruline dans les deux milieux M2 et M4 en fonction du temps à 37°C

D'après cette figure, nous constatons une croissance continue dans l'intervalle de temps allant de 2 à 30 jours d'incubation à 37°C de milieu M2, alors que, une croissance est constatée pour le milieu M4 dans l'intervalle de temps allant de 2 a 10 jours. Ceci peut être expliqué par l'élévation de la concentration des molécules du carbone, au-delà de 21^{éme} jours la croissance ralentit pour le milieu M2 ainsi de 10 a 21 jours pour le milieu M4, le ralentissement de la croissance peut être due à la diminution ou l'épuisement de la concentration de la source du carbone dans les deux milieux M2 et M4.

Le taux de croissance est estimé de 0.005 h^{-1} dans le milieu M2 (Annexe 1).

Le taux de croissance est estimé de 0.001 h^{-1} dans le milieu M4 (Annexe 2).

3.3. Rendement en spiruline

Le milieu M2 a donné un rendement en spiruline nettement supérieur à celui issu du milieu M4 (Tableau V).

Tableau V : rendements en spirulines issues des milieux de culture M2 et M4

Milieux	Durée de culture	Masse fraiche (g/100ml)	Masse sèche (g/100ml)
M2	30 jours	6.6	0.3
M4	30 jours	5.3	0.06

3.4. Caractérisation des spirulines issues des deux milieux M2 et M4

Le tableau suivant montre les différents résultats de dosage de la chlorophylle et la phycocyanine constituant les spirulines obtenues :

Tableau VI : résultats de la chlorophylle totale et de la phycocyanine des spirulines obtenues.

	Milieux de culture	Chlorophylle totale (g/0.02g)	Phycocyanine (g/0.02g)
Spirulines	M2	15.758±0.277	84.472±0.842
	M4	10.609±0.262	34.51±1.779

L'analyse quantitative des spirulines issues des deux milieux étudiés M2 et M4 montre que, la spiruline issue du milieu M2 est très riche en phycocyanine avec une teneur considérable en comparaison à celle issue de milieu M4.

De même la chlorophylle totale estimée dans la spiruline issue du milieu M2 reste importante par rapport à celle issue du milieu M4.

Ces résultats expérimentaux sont en accord avec la littérature qui présume que, la phycocyanine est un pigment abondant. Parfois, il est seul présent chez les algues bleues. (Benahmed Djilali, 2012).

3.5. Résultats d'analyse Infra-Rouge des poudres de spirulines

L'analyse Infra-Rouge d'un échantillon d'origine biologique est une méthode qualitative rapide qui permet de révéler la présence de certains groupements fonctionnels caractéristiques.

La figure présente le spectre Infra-Rouge de spirulines cultivées dans les milieux naturels M2 et M4.

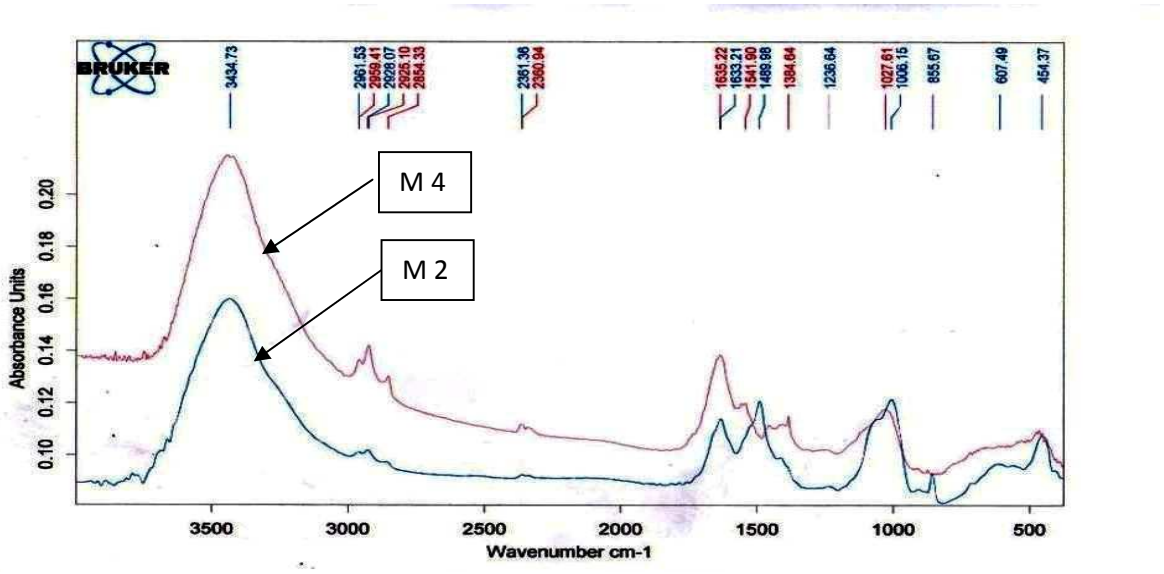

Figure 15 : Résultats d'analyse IR des poudres de spirulines issues des deux milieux M2 et M4

L'analyse IR montre une différence dans la position et l'intensité des pics des deux milieux .Cette différence est attribuée aux conditions de culture.

Les spectres IR montrent une bande caractéristique à 3434,73 cm^{-1} approximativement pour les deux poudres analysées. Cette bande est attribuée à la structure du groupe hydroxyle (O_H).

L'intensité du pic de la poudre de spiruline cultivée dans le milieu M4 est plus importante en comparaison à celle cultivée dans le milieu M2. La présence des groupes hydroxyles nous renseigne sur la teneur en humidité absorbée par les deux espèces récoltées.

Les spectres IR indiquent aussi une bande caractéristique à 1635.22 cm^{-1} approximative pour les 2 espèces analysées, cette bande est attribuée à la structure du groupe carboxyle (C=O) acide uronique.

L'intensité du pic de la poudre de spiruline cultivée dans le milieu M4 est plus importante en comparaison à celle issue du milieu M2.

Nous résultats ne sont pas conformes avec les résultats du spectre d'absorption IR de la spiruline burkinabé (souche de référence) réalisé par BENAHMED DJILALI, (2012) car cette dernière contient les groupements amine, carboxylique, hydroxyle et les phosphates. La

spiruline qu'on a obtenue dans les deux milieux contient des groupements hydroxyle et carboxyle. On recommande de les utiliser en agriculture comme source de carbone.

Les résultats obtenus nous confirment que la spiruline change sa structure en fonction de la nature de milieu de culture utilisé.

3.6. Evaluation des polyphénols totaux et flavonoïdes

Les résultats obtenus des différents dosages sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (mg EAG/mg) pour les polyphénols et en mg équivalent de quercitine (mg EQ/mg) pour les flavonoïdes par mg d'extrait, en utilisant les équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage (Annexe 3).

Tableau VII : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait brut d'*Ulva sp*

	Polyphénols totaux (mg EAG/mg extrait)	**Flavonoïdes (mg EQ/mg extrait)**
Extrait brut	1.040±0.007	0.011±0.024

L'analyse des composées phénoliques montre que, l'extrait méthanolique obtenu à partir de l'algue verte *Ulvasp* possède une teneur élevée en polyphénols totaux. Contrairement, la teneur en flavonoides est faible. Ce résultat est en accord avec d'autres travaux.

D'après la littérature, il existe peu de travaux sur le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (Zeng *et al*, 2001, Meenakshi and Gnanambigai, 2009; Sava and Sirbu, 2010). Il a été rapporté que, les algues vertes contiennent des teneurs variant entre (8,43 et 33,39 mg/gMS), les algues brunes des teneurs variant entre (20,72 et 32,89 mg/g MS) et les algues rouges des teneurs variant entre (6,03 et20, 91 mg/g MS).

Par ailleurs, il est rapporté que, les teneurs en flavonoïdes dans les algues marines varient selon l'espèce, la saison et d'autres conditions géographiques (Sarojini *et al*, 2012).

Des études récentes ont montré que, les teneurs en composés phénoliques, changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce, à cause des facteurs extrinsèques (température, climat…), génétiques (la variété et l'origine d'espèces), physiologiques (l'âge, les organes utilisés) **(**Maisuthisakul *et al*, 2007; Ksouri e*t al*, 2009).

Notre étude a permis de mettre en œuvre des milieux naturels à base d'extrait d'algues marines (*ulva sp*),l'eau de mer et les cendres de bois de figuier pour la culture de *Spirulina platensis*.

Les deux milieux naturels M2 et M4 ont été optimisés représentant respectivement un pH optimale pour la croissance de spiruline (pH= 9.21±0.023 et pH=9.10±0.05).

Le milieu M2 donne un meilleur rendement en spiruline (30%) en comparaison avec celui obtenu dans le milieu M4 (6%).

La spiruline issue du milieu M2 assimile les substances bioactives de l'extrait algal vue sa richesse en polyphénols (1.040±0.007), flavonoïdes (0.011±0.024). Cependant, celle issue du milieu M4 possède des teneurs moins importantes en ces substances analysées.

L'étude qu'on a menée montre que, la croissance de la spiruline est liée à de nombreux paramètres (PH, salinité, agitation).Ces paramètres peuvent devenir des facteurs limitant le développement de *Spirulina platensis* s'ils ne sont pas bien maitrisés et suivis au cours de la culture.

En perspectives, ce travail gagnerait à être approfondi par :

- Culture de la spiruline dans des grands bassins.
- Utilisation des substances bioactives dans les produits alimentaires et pharmaceutiques.
- Valoriser d'autres produits agricoles pour la culture de spiruline.
- Identifier la structure protéique des spirulines obtenues.

1) **Antoine,Houriet.(2015).** Fiche informative sur les cyanobactéries centre nature les cerlatez.

2) Bemard,Moulin. (2004). Le kayak et la mer .pp 3

3) **Benahmed Djilali,A.(2012).**Analyse des aptitudes technologiques de poudre de dattes(Phoenix-dactylifera.l) améliorées pae la spiruline.Etude des propriétés rhélogiques nutritionnelles et antibactériennes.Thése de doctorat

4) **Benahmed Djilali ,A., Benamara ,S., Saidi N., Meksoud ,A. (2011).**Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera L.*) and spirulina (*Spirulina sp.*) powders. Journal. Powder. Technology. Vol 208, pp 725–730.

5) **Ben slimane,K., Sadok ,S., Ben ouada,H., Gouja,I.(2015) .**Optimisation de la méthode d'extraction et de stabilisation de la phycocyanine utilisant la méthodologie de surface de réponse .Vol 42, pp13.

6) **Boittin, I., Coustaline,F., Gonnet ,J.(2013).** Ecadim sur le dihe du tchad . pp 6-8.

7) **Bruno De reviers. (2016).** Algues, Encyclopoedia Universalis. En ligne **:** **http://www.universalis.fr/encyclopedie/algues**

8) Charpy,L., Langlade,M.J., Alliod ,R.(2008). « La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? ». Vol 6, N° 17, pp 6 -9.

9) Christophe,G,A. (2010).Cours dumenat Phyto-aromathérapie. *Faculté de médecine Paris XIII* pp 5-6.

10) Didier, L, B. (2010) .Le joyau bleu de la spiruline : la phycocyanine
N °122, pp83.

11) **Elyah,Ariel .(2001).** Quel avenir pour la spiruline ?pp2

12) **Falquet,J., et Hurni.(2006).** Spiruline : aspects nutritionnels.Antenna Technologie. pp 9-14.

13) **Fox, R, D. (1999).** Spiruline Technique, pratique et promesse. EDISUD, Aix-en-Provence .p246

14) **Gayral, P. (1975).**Les algues morphologie cytologie reproduction écologique.pp12.(163).

15) **Géraldine.,Céline,L.(2009).**les algues le trésor de la mer.Heds,Haute école de santé Genéve.pp1-6.

16) **Gelin, D. (2015).**La spiruline de l'aliment ancestral à une aquaculture moderne.

17) **Jesséca,Banks.(2007).**Etude spiruline au palacret.pp7et pp12

18) **Jourdan,J,P.(2006).**Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline .Antenna Technologie Paris :http://www.antenna.ch/publication.html

19) **Julie,Person .(2011).** Livre turquoise algues filières du futur pp 52,54.

20) **Kosalec,I., Bakmaz,M., Pepeljnjak,S.,Vladimir-Knez ,E.(2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm*, **(54).** 65-72.

21) **Memory,H.(2006).**Biologie Module1,diversité des algues et des plantes pp45.

22) **Meenakshi ,S., Gnanambigai ,D,M.(2009).** Global Journal of Pharmacology. 3, 59-63.

23) **M 'hamed, H. (2010).** La spiruline, une algue en quête d'une mise en valeur. pp 4.www. Nouara Algérie.com.

24) **Morin,L., Schmitt,B ., Dupire,J.(2014).** Culture et vente de Spiruline **:** Etude de faisabilité économique .pp 14.

25) **Ould bellahcen, T., Bouchabchoub, A., Massoui, M., Yachioui, M. (2013).** Qualité nutritionnelle de *spirulina platensis* en croissance dans les eaux usées domestiques. N° 14,p p124.

26) **Ramesh,M.(2000).**Effet of cooking and drying on the thermal conducting of rice.Int.journal.Food.Properties.Vol3, N°1, pp77-92.

27) **Razafindrajaona ,J,M., P, Rakotozandriny., Rakotozandrindrainy, R., Tsivingaina, A., Ramapiherika, K,D.,Randria ,J, N.(2008).** Colloque international sur la spiruline pp 142.

28) **Roland,J,C.,El Maarouf,H.,Boutean,F.(2008).**Atlas biologie végétale organization des plantes sans fleurs algues et champignons pp 10-11.(139).

29) **Sall, M., Dankoko, B., Badiane, M., Ehua, E., Kuakuwi, N. (1999).** La spiruline : une source alimentaire a promouvoir. Médecine d'afrique noire. vol 46, N° 3.

30) **Sarojini, y., Lakshminarayana ,K., Seshagiri, P., Rao.(2012).**Variations in distribution of flavonoids in some seaweed of Visakhapatnam coast of India. Der Pharma Chemica, (4).1481-1484.

31) **Sava, C., Sirbu, R.(2010).** Ovidius University Annals of Chemistry. 21et 29-34.

32) **Sawadogo, M., Nikiema ,J,B., Compaore ,M. (2004)**.*La spiruline nayalgue :* Projet de production intégrée au burkina faso.vol 13, pp119.

33) **Singleton,V,L., Rossi ,J,A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, American Journal of Enology and Viticulture, **(16)**. 144-158..

34) **SOFIA. (2004).**La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture.p111

35) **Tabutin, I., Gouesin,P.,Mollo,P.(2002).**La spiruline contre la malnutrition. pp 12.

36) **Thierry, Pons. (2010).**Travaux et innovation.N°171, pp37.

37) **Zeng Y., Chen Y.S., Lu H.S., (2001).** Screeninng for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. Chinese Journal of Oceanology and Limnoligy, **19** (4). 327-33.

Sites web

1) http:/www.aquaportail.com/définition des algues vertes.
2) www.aleor.eu/ulve.

ANNEXE N`01

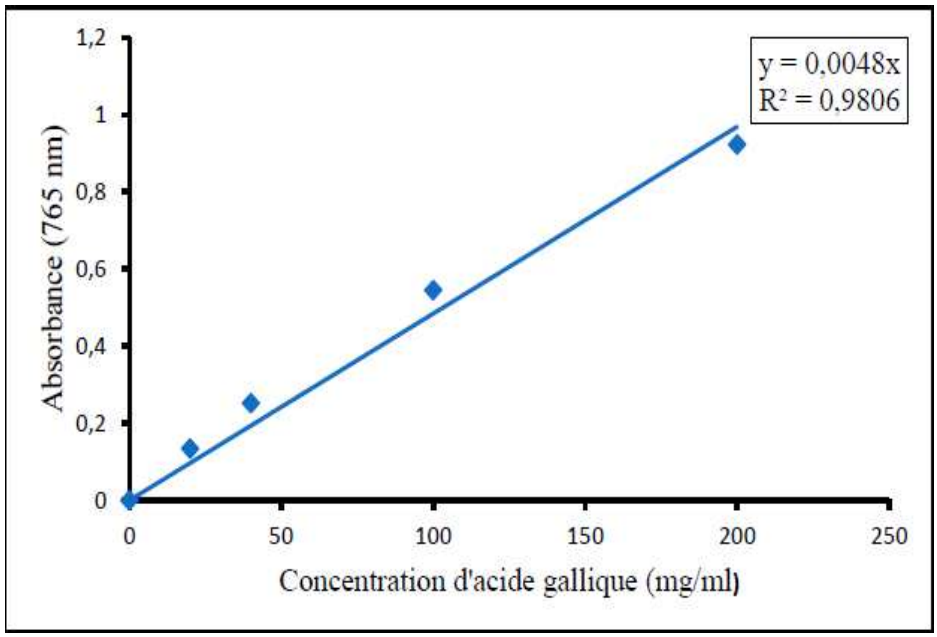

Figure 01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

ANNEXE N02

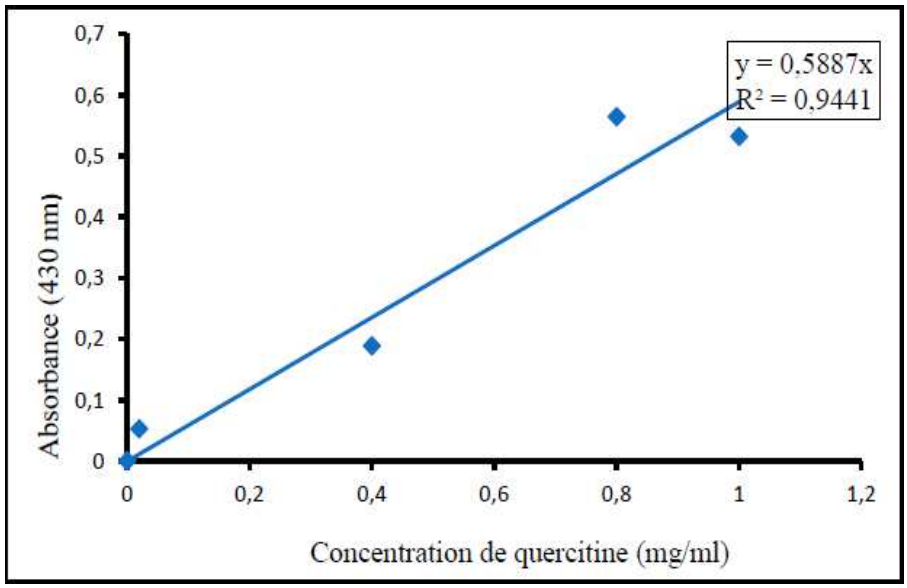

Figure02 : Courbe d'étalonnage de quercitine pour le dosage des flavonoïdes

ANNEXE N^0 3

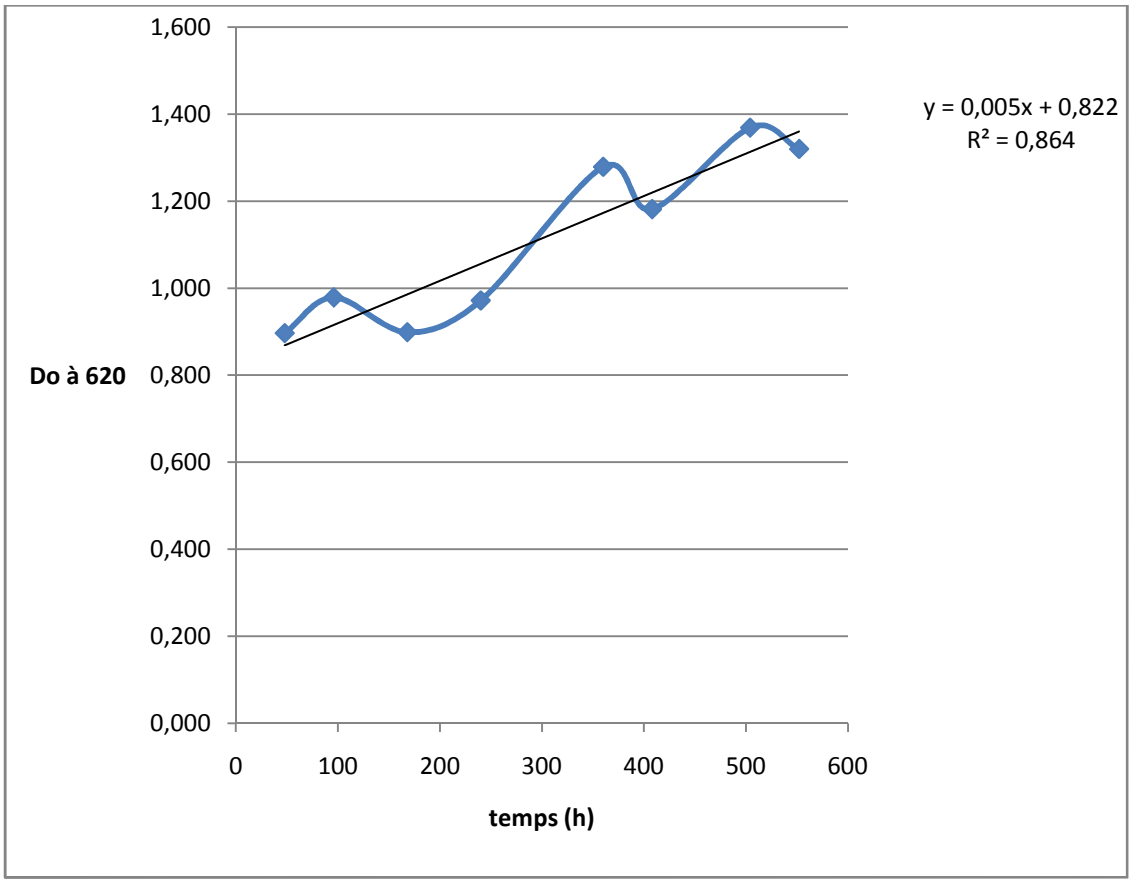

Figure 03 : le taux de croissance de spiruline dans le milieu M2

ANNEXE N^0 4

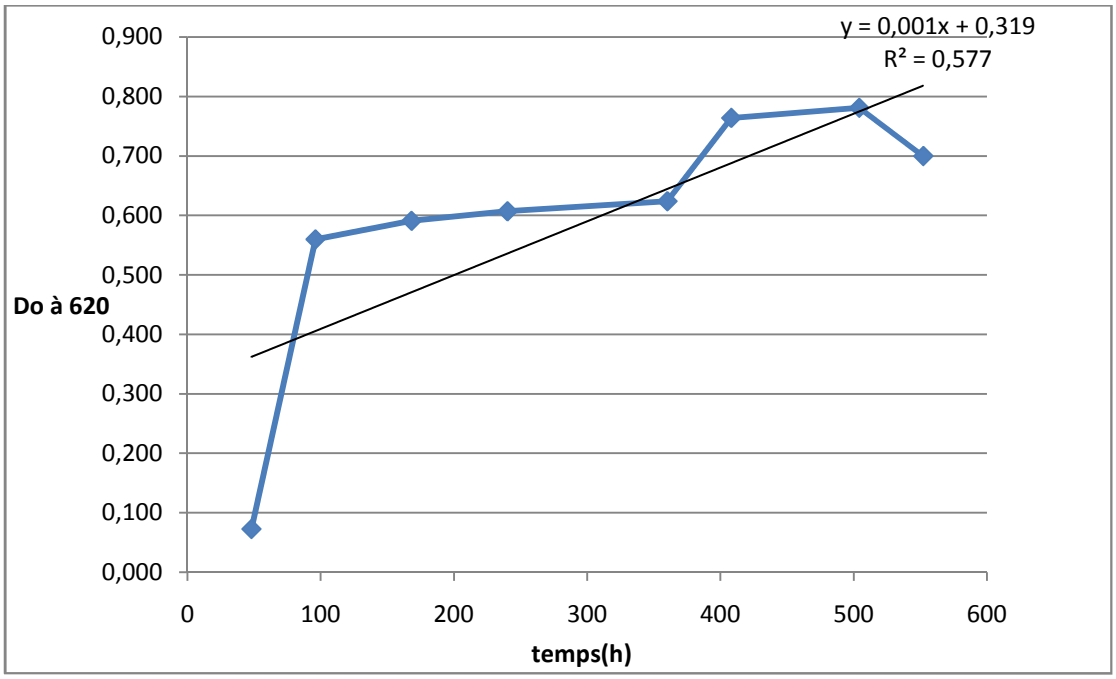

Figure 04: le taux de croissance de spiruline dans le milieu M4

Résumé

Résumé

La culture de spiruline a été réalisée dans deux milieux préparés M2 (a base d'extrait d'algue marine +eau de mer+solution de bois de figuier) et M4 (a base d'extrait d'algue marine).

Dans un premier temps, cette culture est lancée dans une étuve à 37C°. Le suivi de la culture a été réalisé en suivant l'évolution du pH, production de phycocyanine, et le rendement en spiruline. Les résultats montrent que le milieu M2 donne un meilleur rendement en spiruline en comparaison avec le milieu M4. L'analyse IR des poudres de spirulines issues des deux milieux a été réalisée, les résultats des poudres de spirulines obtenues révèlent la prédominance des groupes carboxyles et des groupes hydroxyles.

D'autres paramètres restent à étudier, afin d'évaluer la qualité et le rendement en spiruline en valorisant les produits agricoles locaux.

Mots clés : spiruline, algues marines, eau de mer, cendre de bois de figuier, phycocyanine, chlorophylle.

Abstract

The cultivation of spirulina culture was carried out in two media M2 prepared from (sea water, cinders of fig wood, seaweed extract) and M4 from (seaweed extract).

In a first step, this culture is launched in an oven at 37C°. The follow-up of the culture was carried out following the evolution of pH, of phycocyanin, and the yield of spirulina.The results show that the medium M2 gives a better yield of spirulina compared to those obtained in the M4 medium. The IR analysis of the spirulina powders obtained reveals the predominance of hydroxyl groups and carboxyl groups. Other parameters remain to be studied in order to evaluate the quality and the yield of spirulina by valorising the agricultural products.

Key words: spirulina, seaweed extract, sea water, cinders of fig wood, phycoyanin, chlorophyll.