

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE



Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

Université Kasdi MERBAH
- Ouargla -

FACULTE DES SCIENCES ET SCIENCES DE L'INGENIEUR

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures en Biologie

Option: Biochimie

THEME

**Influence du stress salin sur la composition
minérale de la spiruline
(*Arthrospira platensis*)**

Réalisé par:

- LAICHE Omar Touhami
- BESSEI Abdelmalek

Dirigé par:

Promotrice: M^{me}: SIBOUKEUR O : M.C (Univ.Ouargla)

Co-promoteur: M^r: SAGGAI A: M.A.C.C (Univ.Ouargla)

Année Universitaire: 2008/2009

Remerciements

Avant tous, nous remercions **ALLAH** tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Nos vifs remerciements et notre profonde gratitude s'adresse à notre promotrice **Mme. SIBOUKEUR Oumelkhir**, Maitre de conférences A, à la faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur, pour avoir dirigé ce travail, nous la remercions infiniment pour son aide, ses conseils, ses orientations et sa correction sérieuse.

Nous remercions également notre co-promoteur **Mr. SAGGAI Ali**, Maitre Assistant Chargé de Cours à la faculté des Sciences et Sciences de l'ingénieur, pour sa présence durable aux cours de la réalisation de cette étude et qui n'a pas épargné aucun effort pour nous aider et nous orienter.

Nos vifs et sincères remerciements vont à **Mr. HIRI Abdelkader**, Docteur en Géologie installé à Tamanrasset, qui nous a fourni la souche de spiruline.

Nous n'oublions pas de remercier **Mr. BELAAROUSSI Mohamed** pour son aide et ses conseils.

Nos remerciements s'adressent à tout le personnel du laboratoire du Département d'Agronomie et biologie, le personnel du laboratoire de l'ARNH ; ainsi qu'à celui de la bibliothèque.

C'est avec le plus grand plaisir que nous tenons à exprimer nos remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou loin à la réalisation de ce travail.

BESSEI A. et LAICHE O. T.

Table des matières

Introduction	
Partie bibliographique	
1.1. Généralités sur les cyanobactéries.....	1
1.1.1 Cytologie.....	1
1.1.1.1-Aspects cellulaires.....	1
1.1.1.2-Paroi cellulaire	2
1.1.1.3- Pigments.....	2
1.1.2- mode nutritionnel	3
1.1.3-Reproduction	3
1.1.4- Mobilité.....	4
1.1.5- Ecologie.....	4
1.1.6- Classification	4
1.2- Généralités sur le la spiruline (<i>Artrhospira.sp</i>).....	6
1.2.1- Généralités.....	6
1.2.2- Biologie de la spiruline.....	7
1.2.3-Flottabilité et Mobilité.....	7
1.2.4- Reproduction et Croissance.....	8
1.1.5- Classification.....	8
1.2.6- Valeur nutritionnelle.....	8
1.2.6.1-Protéines.....	9
1.2.6.2- Lipides.....	9
1.2.6.2.1-Lipides totaux.....	9
1.2.6.2.2- Acides gras.....	10
1.2.6.3- Glucides.....	11
1.2.6.4- Acides nucléiques.....	11
1.2.6.5-Vitamines.....	12

1.2.6.6 - Minéraux et Oligoéléments	14
1.2.7- Intérêts thérapeutiques de la spiruline.....	14
1.2.8- Ecologie de la spiruline.....	15
1.3- La spiruline ; conditions de culture.....	17
1.3.1-Bases techniques de la production.....	17
1.3.2- Milieu de culture.....	17
1.3.3- Facteurs essentiels de la culture.....	18
1.3.3.1- Température	18
1.3.3.2- Lumière.....	18
1.3.3.3- Agitation.....	18
1.3.3.4- Salinité.....	19
1.3.3.5- pH.....	19
1.3.4- Nourriture minérale de la spiruline.....	19
1.3.5-Ensemencement.....	20
1.3.5.1-choix de la souche.....	20
1.3.5.2- Mesure de la concentration d'une culture de spiruline.....	20
1.3.6- Récolte.....	21
1.3.7-Séchage.....	21
1.3.8- conditionnement.....	21
1.3.9- Consommation humaine	22
1.3.10- Suivi de la culture	23
1.3.10.1- Couleur	23
1.3.10.2- Renouvellement du milieu de culture.....	23
1.3.10.3-Anomalies.....	24
1.3.10.4-contamination de la culture	24
1.3.10.5- Empoisonnement chimique de la spiruline.....	24
1.3.10.6- Maladies	25
1.3.11- Systèmes de culture.....	25
1.3.11.1- Systèmes artisanaux	26
1.3.11.2-Fermes industrielles	26
1.3.11.3- Nombre et surface des bassins.....	27

Partie expérimentale	
2.1 Matériel et méthodes.....	28
2.1.1- Matériel d'étude.....	28
2.1.1.1- Matériel biologique.....	28
2.1.1.2- Matériel de laboratoire	28
2.1.1.2.1- Petit matériel	28
2.1.1.2.2- Matériel de culture	28
2.1.2- Méthodes du travail.....	29
2.1.2.1- Dispositif expérimental.....	29
2.1.2.2- Préparation de la culture da spiruline.....	29
2.1.2.2.1- Préparation du milieu de culture.....	29
2.1.2.2.2 - Eau du sénonien	30
2.1.2.2.3- Enrichissement du milieu de culture en éléments minéraux.....	32
2.1.2.3- Ensemencement de la spiruline.....	32
2.1.2.4- Suivi de la culture.....	33
2.1.2.4.1-Contrôle du matin.....	33
2.1.2.4.2- Contrôle de l'après-midi	34
2.1.3 - Méthodes d'analyse	34
2.1.3.1-Analyses physico-chimiques	34
2.1.3.1.1- pH	34
2.1.3.1.2- Conductivité électrique	34
2.1.3.1.3- Matière sèche.....	35
2.1.3.1.4- Cendres.....	36
2.1.3.1.5- Eléments minéraux	36
2.2- Résultats et discussions.....	38
2.2.1 Observation microscopique.....	38
2.2.2-Analyses physico-chimiques.....	39
2.2.2.1- pH.....	39
2.2.2.2- Conductivité électrique.....	40
2.2.2.3- Taux de matière sèche	41

2.2.2.4-Teneur en cendres	42
2.2.2.4- Teneur en éléments minéraux	43
2.2.2.4.1- Teneur en calcium	43
2.2.2.4.2- Teneur en magnésium	44
2.2.2.4.3- Teneur en sodium	45
2.2.2.4.4- Teneur en potassium	46
2.2.2.4.5- Teneur en fer	47
2.2.3-Discussion générale	48
Conclusion	
Bibliographique	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Principaux ordres des cyanobactéries et ses principaux genres	5
Tableau II	Principaux acides gras de la spiruline	10
Tableau III	Teneur en acides nucléiques de quelques aliments	12
Tableau IV	Teneur en vitamines hydrosolubles dans la spiruline	13
Tableau V	Teneur en vitamines hydrosolubles dans la levure de boulanger	13
Tableau VI	Teneur en oligoéléments dans la spiruline	15
Tableau VII	Distribution géographique de la spiruline dans le monde	16
Tableau VIII	Analyse d'un milieu de culture typique	17
Tableau IX	Dispositif expérimental	29
Tableau X	Caractéristiques physicochimiques de l'eau de la nappe du sénonien	31
Tableau XI	Composition chimique du milieu de culture	32
Tableau XII	Stratégie de l'ajout du milieu de culture	33
Tableau XIII	Détermination de la minéralisation globale	35

Liste de figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Différentes formes cellulaires des cyanobactéries	2
Figure 2	Spiruline fraîche pour l'apéritif	22
Figure 3	spirulines "étripées" vues au microscope	25
Figure 4	Dosage de Ca^{++}, Na^+, K^+, Mg^{++}, Fe^{++}.	37
Figure 5	Valeur du pH du milieu de culture en fonction de la salinité	39
Figure 6	Evolution de la conductivité électrique du milieu de culture en fonction de la salinité.	40
Figure 7	Teneur en MS de la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	41
Figure 8	Taux des cendres de la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	42
Figure 9	La teneur en calcium (Ca^{++}) dans la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	43
Figure 10	La teneur en magnésium (Mg^{++}) dans la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	44
Figure 11	La teneur en Sodium (Na^+) dans la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	45
Figure 12	La teneur en Potassium (K^+) dans la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	46
Figure 13	La teneur en Fer (Fe^{++}) dans la spiruline en fonction de la salinité du milieu de culture.	47

Liste des photos

Photo	Titre	Page
Photo n° 1	mise en place du dispositif expérimental	29
Photo n° 2	Bidons remplis de spiruline souche et de milieu de culture	32
Photo n° 3	Observation de la culture D1, (x40).	38
Photo n° 4	Observation de la culture D2, (x40).	38
Photo n° 5	Observation de la culture D3, (x40).	38

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
OMS	Office mondiale de la Santé
FAO	Food and Agriculture organization
UNICEF	United Nations Children's Emergency Fund
ANRH	Agence nationale des Ressources hydriques
AFNOR	Association Française de la Normalisation
MS	Matière Sèche
CE	Conductivité Electrique
ms	Milli-siemens
MC	Milieu de Culture

Annexe

Annexe 1 : Correction de la valeur de la CE en fonction de la température

La conductivité électrique d'un liquide dépend largement de la température. Cette dernière sera révélée très exactement au cours de la mesure. En dehors de 25°C, on doit effectuer une correction de la conductivité électrique mesurée d'après la formule suivante :

$$C_{25}^{\circ C} = C_T \times f$$

C_T : Conductivité obtenue à la température lue sur le thermomètre.

f : est donnée par le tableau spécial.

Tableau : Facteur de correction de la température :

$^{\circ}C$ de mesure	F_{25}
0	1.918
1	1.857
2	1.800
3	1.745
4	1.693
5	1.596
6	1.551
7	1.543
8	1.508
9	1.469
10	1.428

11	1.390
12	1.354
13	1.320
14	1.287
15	1.256
16	1.225
17	1.196
18	1.168
19	1.141
20	1.116
21	1.091
22	1.067

23	1.044
24	0.979
25	1.000
26	0.979
27	0.959
28	0.940
29	0.921
30	0.903
31	0.886
32	0.869
33	0.853
34	0.837

Annexe 2 : Détermination de la minéralisation globale de l'eau

Il existe une relation entre la teneur en sels dissous d'une eau et sa conductivité. Toutefois, la minéralisation déterminée par pesée de l'extrait sec n'est pas identique rigoureusement à celle calculée à partir de la conductivité, étant donné les erreurs inhérentes à la détermination de chacune de ces deux mesures (**Voir tableau XIII**). Dans ce tableau, on utilise la conductivité en 20 °C, l'obtention de cette valeur est faite suivant la relation de conversion suivante :

$$CE_{20}^{\circ C} = 1.16 \times C_{25}^{\circ C}$$

En fait, le calcul de la minéralisation à partir de la conductivité ne permet pas d'avoir une valeur exacte. Les différences entre les résidus secs et la minéralisation obtenue par cette méthode sont très fréquentes. La possibilité ainsi offerte à surtout un intérêt dans le cas de vérification de concordance ou dans une étude de l'évolution d'une perturbation.

Annexe 3 : Milieu de culture ZARROUK

Le milieu Zarrouk, référence dans ce domaine, présente la composition suivante (Fox, 1999 ; Jourdan, 1997):

Composition du milieu de base (en g/l de solution aqueuse)	
NaHCO ₃	16.8
K ₂ HPO ₄	0.5
NaNO ₃	2.5
K ₂ SO ₄	1.0
NaCl	1.0
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0.2
CaCl ₂	0.04
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	0.01
1ml de A5 + 1ml de B6 pour chaque litre de milieu de base	
Composition de la solution A 5 (en g/l)	
H ₃ BO ₃	2.86
MnCl ₂ , 4 H ₂ O	1.81
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	0.22
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0.08
Composition de la solution B 6 (en mg/l)	
NH ₄ VO ₃	22.9
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ , 24 H ₂ O	96.0
NiSO ₄ , 7 H ₂ O	47.8
Na ₂ WO ₄ , 2 H ₂ O	17.9
Ti ₂ (SO ₄) ₃	40.0

Ce milieu présente l'intérêt d'être adapté presque par toutes les souches de spiruline et simplifie considérablement le travail de l'algoculteur.

Annexe 4: Photos de la spiruline et du protocole expérimental.



Photo n^o 6 :
Spiruline reçue.



Photo n^o 7 :
Préparation du
milieu de culture.



Photo n^o 8 :
Mesure du pH et de
la conductivité
électrique

Introduction

Dans le monde, plus de 800 millions de personnes dont 200 millions d'enfants de moins de 5 ans souffrent de sous-alimentation. Par ailleurs, des milliers d'enfants meurent chaque jours emportés par des maladies infectieuses sévèrement aggravées par la malnutrition. Les régions où l'explosion démographique est la plus forte sont aussi celles où sévit une pénurie chronique de nourriture. C'est pourquoi la FAO, l'OMS et l'UNICEF ont recommandé aux chercheurs du monde entier de réexaminer le potentiel alimentaire de l'humanité. Des ressources ignorées jusqu'alors commencent à émerger grâce à ces recherches.

En 2006, plus de 3,5 milliards de personnes souffrent de carence en fer, 2 milliards sont en danger de carence en iode et 200 millions d'enfants d'âge préscolaire sont victimes d'insuffisance en vitamine A. (**Anonyme 1, 1996**).

Parmi les ressources alimentaires non conventionnelles, a été adoptée une algue bleue qui offre jusqu'à 70 % de protéines, de sels minéraux, des oligo-éléments et de nombreuses vitamines. Cette algue : c'est la **spiruline**, qui grâce à ses qualités nutritionnelles exceptionnelles nous est proposée dans l'alimentation humaine notamment comme complément protéique d'une alimentation suffisamment énergétique (**CLEMENT, 1975**).

La production de la spiruline est d'autant plus avantageuse et intéressante quand on sait que la récolte est quotidienne et que la culture a lieu à l'abri des insectes, des pesticides et des maladies (**COORD, 1999**).

A l'instar des pays en voie de développement et particulièrement ceux d'Afrique, l'Algérie déploie des efforts dans le but de garantir une indépendance économique, agricole et notamment alimentaire. Parmi les secteurs ciblés par le plan national du développement, on note, l'aquaculture.

L'aquaculture est une activité dont l'origine est ancienne, mais son développement est récent. Il est intéressant de bien faire remarquer que l'aquaculture peut se rapprocher de l'agriculture et qu'elle a bien de points communs (**BILLARD, 2005**).

La culture de spiruline dans le monde, se concentre dans la ceinture tropicale (Tchad, Inde, Mexique). Dans ces régions, la spiruline peut pousser spontanément à cause de la présence des conditions favorables (pH, salinité, température) pour sa croissance. En Algérie, l'unique exploitant de cette espèce et qui maîtrise parfaitement les techniques de sa culture et de sa production est le Docteur en Géologie Mr. **HIRI Abdelkader** installé à Tamanrasset.

La tentative d'introduction de la spiruline dans nos habitudes alimentaires, nous oblige, dans un premier temps, de maîtriser sa culture. La salinité constitue l'un des principaux facteurs limitant pour celle-ci, la spiruline pouvant tolérer une marge de salinité assez large. Cette étude a pour objectif d'étudier l'influence du stress salin sur quelques constituants minéraux de la spiruline, tels que, le fer, le sodium, le calcium, le potassium et le magnésium.

Ce travail se compose de deux parties essentielles :

- Mise en culture de la spiruline.
- Récolte et analyses physicochimiques.

1.1. Généralités sur les cyanobactéries

Les algues constituent un vaste assemblage artificiel d'organismes polygénétiquement éloignés, dont l'étude, pour des raisons historiques, a cependant donné naissance à une discipline : la phycologie.

La classification des algues est partiellement biochimique, mais reste encore fondée sur les caractéristiques plastidiales telle que la nature et la localisation des pigments (chlorophylles, phycobilines, carotènes et caroténoïdes) ou la disposition des thylacoïde (**BRUNO DE REVIERS ,2003**).

Les algues bleues sont nommées "Cyanobactéries". Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène (**BOURRELY, 1985**).

1.1.1--Cytologie

1.1.1.1-Aspects cellulaires

Ce sont des végétaux unicellulaires ou pluricellulaires, fondamentalement autotrophes, constitués d'éléments identiques isolés ou disposés en file linéaire, dépourvus d'un noyau à membrane définie et de mitochondrie (**GRASSE, et FEDMANN, 1963**).

Elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires; dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments composés de cellules alignées (ces filaments sont appelés trichomes) (**fig.1**). La taille des cellules de cyanobactéries se situe généralement entre 1 et 10 microns (**FALQUET, 1996**).

Les cellules présentent une coloration homogène car elles n'ont pas de plastides individualisés. En effet, elles sont faites d'une zone périphérique colorée, *chromoplasma*, et une partie centrale plus claire, *centroplasma* ou *nucléoplasma*. Ce dernier fait fonction de noyau mais reste souvent diffus et sans membrane limitante (**BOURRELY, 1985**).

Les cyanobactéries, sont ainsi nommées car elles présentent toutes les caractéristiques essentielles des procaryotes : l'ADN (se localise dans des zones données du cytoplasme) n'est pas associé à des histones, sa réplication et sa répartition dans les cellules filles, ne sont pas bien connues, mais on peut supposer qu'elles se font d'une manière semblable à celle des bactéries. Il n'y a pas de mitochondries, ni de dictyosomes, ni de réticulum endoplasmique, ni de plastides (**NULTSCH, 1998**).

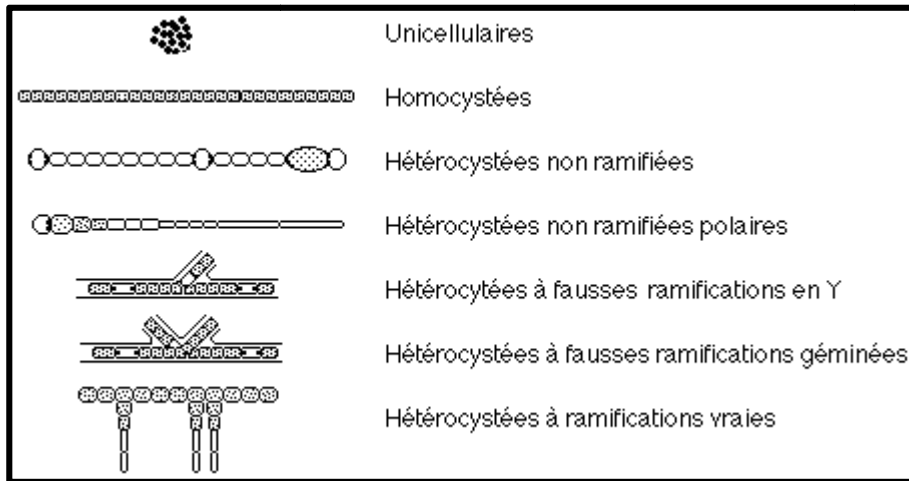


Figure 1 : Différentes formes cellulaires des cyanobactéries.

1.1.1.2-Paroi cellulaire

La paroi proprement dite contient des substances à haute poids moléculaire ; dont les plus abondantes sont des protéines, des lipides, des polysaccharides et une substance particulière *la mureine*. Cette dernière est un mucopolymère dont les molécules forment un réseau, qui donne sa constance à la paroi, cette molécule existe tant chez les bactéries que chez les cyanobactéries (**GRASSE, et FEDMANN, 1963**).

Les cyanobactéries sont des bactéries GRAM⁻, ce qui signifie que, en plus de leur membrane plasmique et d'une paroi contenant de peptidoglycane, elles sont recouvertes par une seconde membrane lipopolysaccharidique ; responsable de la coloration de GRAM⁻. Cette membrane est liée à la couche de peptidoglycane par des lipoprotéines pariétales (**DE REVIERS, 2003**).

1.1.1.3- Pigments

Ils sont nombreux, à savoir : la *chlorophylle* verte, la *phycocyanine* bleu-verte, la *phycoérythrine* rouge et des pigments d'accompagnement ; *carotène* et *xanthophylle* rouge ou ochracés (**GRASSE, et FEDMANN, 1963**).

Du fait de la présence simultanée de ces différents pigments (en proportions variables) ces algues prennent différentes couleurs ; rouges (*Trichodesmum erythraeum*), plus ou moins noirâtres (Nostoc commune) ou verdâtre (Spiruline) (**BRUNO DE REVIERS ,2003**).

Chez les cyanobactéries existent la chlorophylle *a* et *c* ; l'absence de la forme *b* a été constatée dans diverses espèces. La forme *c* ou *chlorofucine* est un produit de dégradation de la chlorophylle *a* (**GRASSE, FEDMANN, 1963**).

1.1.2- Mode nutritionnel

Il s'agit d'organismes pour la plupart photosynthétiques donc autotrophes, (**DE REVIERS ,2003**). Les cyanobactéries pratiquent l'autotrophie grâce à leurs chromoplastes feuillé et imprégné de chlorophylle (**GRASSE, et FEDMANN, 1963**).

Les cyanobactéries réalisent la photosynthèse oxygénique et possèdent les deux photosystèmes, en utilisant comme donneur d'électrons l'eau, H₂S, H₂ ou des composés organiques (**DE REVIERS ,2003**).

Les cyanobactéries assimilent le carbone à travers le cycle de Calvin et stockent l'énergie et le carbone sous forme de glycogène. Les cyanobactéries varient considérablement dans leurs schémas métaboliques. Elles ont en commun l'absence de cycle de Krebs complet. Beaucoup de cyanobactéries, surtout parmi les filamenteuses, sont capables de réduire (fixer) l'azote de l'air, grâce à des structures spécialisées appelées hétérocystes (**FALQUET, 1996**).

Cependant, certaines espèces peuvent être hétérotrophes ; des Oscillaires, pigmentées, cultivées à l'obscurité, dans des milieux additionnés de sucre, d'amidon et d'inuline, deviennent hétérotrophes . (**GRASSE, FEDMANN, 1963**).

1.1.3-Reproduction

Jusqu'ici aucun phénomène de sexualité n'a été rapporté relativement aux cyanobactéries. La division binaire des cellules assure la multiplication des espèces unicellulaires et la croissance dans les formes pluricellulaires. Tout individu d'une espèce unicellulaire ou toutes les cellules disposées en filament ou en chapelet ont la faculté de se multiplier par bipartition (**GRASSE, FEDMANN, 1963**).

Il existe trois types de base de reproduction asexuée :

- ✓ **La fragmentation** : le thalle se casse et chaque partie repousse pour former un nouveau thalle.
- ✓ **La sporulation** : les spores peuvent être formées dans les cellules végétatives ordinaires ou dans les structures spécialisées appelées sporanges.
- ✓ **Scission binaire** : elle se produit par division du noyau puis du cytoplasme.

1.1.4- Mobilité

La plupart des cyanobactéries sont capables de se déplacer, soit à l'aide de vésicules gazeuses (dans les liquides) soit, dans le cas des cyanobactéries filamenteuses, par glissement (jusqu'à 25 microns par seconde) grâce à des microfibrilles (**FALQUET, 1996**).

1.1.5- Ecologie

Les cyanobactéries, organismes panchroniques par excellence n'ont probablement que peu variées depuis le Précambrien (2700 Millions d'années ou plus), elles possèdent une grande adaptabilité et peuplent des milieux très variés ; beaucoup se contentent même des terres humides. Les conditions les plus sévères à lesquelles la vie reste possible n'arrêtent pas leur vie active, ainsi les trouve-t-on dans les eaux très chaudes, des eaux très froides, dans les eaux douces et des eaux chargées en sels variés (**GRASSE, et FEDMANN, 1963**).

Entre certaines cyanobactéries et d'autres organismes s'établissent des relations symbiotiques. Soit associées avec des champignons pour constituer les lichens, soit dans les organes de quelques plantes supérieures (**FELDMAN, 1985**).

Certaines cyanobactéries sont attachées à la surface de diverses structures, tandis que d'autres mènent une vie parasitaire. Ainsi des cyanobactéries filamenteuses de la famille des Oxillaspiracées (ordre des Nostocales) vivent dans le tube digestif de divers vertébrés (**ROGER, 1976**).

1.1.6- Classification

Il en existe au moins 2 000 espèces, réparties dans plus de 150 genres (**voir le tableau I**).

Ordre	Caractères distinctifs	Principaux genres	Caractère
Chroococcales	Unicellulaires ou multicellulaires ; filamenteux presque toujours immobiles	Chamaesiphon Synechococcus Gloeotheca Microcystis	Division par bourgeonnement. Bacills originaires d'eaux douces et marins, et de sources chaudes. Coque dans une gaine commune ; fixent l'azote. Coque ; vacuoles gazeuses ; peuvent provoquer des <i>vater blooms</i> toxiques.
Pleurocapsales	Formation des béocystes	Dermocarpa	
Oxillatoriales	Filaments droits sans cellules spécialisées généralement mobiles et pouvant produire des hormogonies	Oxillatoria Trichodesmium Lyngbia spiruline	Trichomes droits ; quelques vacuoles gazeuses ; dans les eaux douces ou chaudes.
Nostocales	Filaments droits avec hétérocystes souvent mobiles et pouvant produire des Akinètes.	Anabaena Aphanizomenon Nostoc Rivularia Gleotrichia	Trichomes non effilés, la plupart mobiles par glissement ; beaucoup à vacuoles gazeuses.
Stigonematales	Filaments ramifiés, peuvent produire des Akinètes.	Fischerella	

Tableau I: Principaux ordres des cyanobactéries et leurs principaux genres. (PERRY et al, 2004).

1.2- Généralités sur la spiruline (*Arthrospira.sp*)

1.2.1- Généralités

Des traces de cyanobactérie, ont déjà été détectées dans des stromatolithes (restes de filaments d'algue pétrifiés dans du calcaire) datant de quelques 3.7 milliards d'années, en Afrique du Sud (**PEREZ, 1997**).

La spiruline ne fut vraiment redécouverte qu'en 1940 au Tchad par un botaniste français du nom de Dangeard. Les *Kanembous*, tribu du Tchad, la consomment encore de nos jours sous le nom de *Dihé*.

Depuis, on a su par les archives mexicaines que la spiruline était aussi consommée du temps des *Azèques*, bien avant l'arrivée des Espagnols, sous le nom de *Tecuitlatl* (**FARRAR, 1966**)

Depuis la mise en place de la culture en masse des microalgues à la fin des années 50, elle connaît un regain de popularité pour l'alimentation humaine.

En 1995, il existe une vingtaine d'exploitations industrielles dans le monde. Actuellement, leur nombre avoisine la trentaine. (**FOX, 1999**).

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

Avant de développer l'état actuel des connaissances scientifiques sur la spiruline, il convient de préciser une terminologie confuse :

- ✓ **spiruline** est le nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre *Arthrospira*.
- ✓ **spirulina** est le nom commercial anglais de la même cyanobactérie.
- ✓ *Spirulina* est le nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des *Arthrospira*. Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de l'alimentation humaine, et aucune n'est commercialisée à cette fin.
- ✓ *Arthrospira* est le nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries

Auxquelles appartient l'espèce alimentaire (**FALQUET, 1996**).

C'est un petit être aquatique (0,3 mm de long), vieux comme le monde dont le nom scientifique est "cyanobactérie *Arthrospira platensis*", qui vit de photosynthèse comme les plantes et prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe. Elle constitue la nourriture traditionnelle des *Aztèques* du Mexique et des *Kanembous* du Tchad (JOURDAN, 1999)

1.2.2- Biologie de la spiruline

La spiruline se présente sous forme de filaments constitués de cellules juxtaposées. Ces filaments sont non ramifiés, les caractéristiques biologiques confirment qu'elle se situe à la frontière du monde bactérien appartenant au groupe des cyanobactéries, et du monde végétal ; en puisant son énergie de la photosynthèse. Elle est, en effet, dépourvue de la cellulose (JOURDAN, 1999).

Longtemps considérée comme une algue microscopique (phytoplancton), elle est en fait à classer dans la catégorie des cyanobactéries (zooplancton) du genre *Arthrospira*, dépourvue de cellulose, la spiruline est de type GRAM⁻ et, procaryote vrai. Malgré son système énergétique photosynthétique, elle est riche en chlorophylle et en phycocyanine, pigment protéique rare donnant à la spiruline sa couleur bleu vert, ainsi qu'une fluorescence rouge (FALQUET, 1996).

L'espèce mexicaine *Arthrospira maxima* se caractérise par des trichomes de 7 à 9 μ de diamètre, de 70 à 80 μ de long, légèrement effilés aux extrémités, formant une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 μ de diamètre. Les cellules constituant les trichomes mesurent 5 à 7 μ de long et ne rétrécissent pas au niveau des articulations.

L'espèce du Tchad *Arthrospira platensis* se compose de trichomes atteignant 350 μ de long, de 5 à 11 μ de diamètre, un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50 μ , diminuant légèrement vers les extrémités (FOX, 1999).

1.2.3-Flottabilité et Mobilité

Les filaments de la spiruline ont tendance d'être envoyés vers le fond, du fait de la photolyse, en augmentant la pression interne et cela dégonfle les vésicules de gaz. Une grande intensité lumineuse peut aussi envoyer les filaments vers le fond. La limitation en CO₂ augmente la flottabilité (FOX, 1999).

Les filaments de la spiruline sont motiles, le déplacement a lieu souvent par des mouvements en vrille. Ce mouvement a été précisé à l'aide de la microscopie par transmission électronique.

1.2.4- Reproduction et Croissance

La spiruline se reproduit par division binaire à l'instar de la majorité des cyanobactéries filamenteuses. Ainsi au cours de la reproduction asexuée, les trichomes de la spiruline forment des hormogonies par la fragmentation ; les cellules se divisent perpendiculairement à l'horizontal.

La croissance de la spiruline est obtenue pour une température de 34 à 40⁰C, 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. L'eau doit présenter une bonne agitation (FOX, 1999).

1.1.5- Classification

La spiruline est classée selon la classification ci-après :

Règne : Monera.

Sous règne : Prokaryota.

Phylum : cyanobacteria.

Classe : Cyanophyceae.

Ordre : Nostocales.

Famille : Oscillatoriceae.

Genre : Arthrospira.

Espèce : *Arthrospira platensis*. (FOX, 1999).

1.2.6- Valeur nutritionnelle

Dépourvue de paroi cellulosique, la spiruline est parfaitement digeste crue ou simplement séchée. C'est d'abord l'impressionnante teneur en protéines des spirulines, ainsi

que leur vitesse de croissance, dans des milieux totalement minéraux, qui ont attiré l'attention des chercheurs. Au cours d'analyses plus approfondies, nombre de points particulièrement intéressants sur le plan nutritionnel sont apparus: composition protéique équilibrée, présence de lipides essentiels rares, de nombreux minéraux et vitamines (**FALQUET, 1996**).

1.2.6.1-Protéines

La teneur en protéines de la spiruline oscille entre 50 et 70% de son poids sec. Ces valeurs sont tout à fait exceptionnelles, même parmi les micro-organismes; d'autre part, les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs, la farine de soya par exemple ne contenant que 35% de protéines brutes. En terme de rendement en protéines, il faut aussi considérer que la totalité de la spiruline est consommable, (contre une petite fraction pour les végétaux habituels); l'azote apporté par les engrais est donc bien plus efficacement convertit en protéines comestibles pour l'homme (**FALQUET, 1996**).

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont bien équilibrées, car tous les acides aminés essentiels y figurent. Ils représentent 47% du poids total des protéines (**BUJARD, 1970**).

Parmi ces acides aminés essentiels, les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés: méthionine et cystéine (**Anonyme 1, 1982 ; BUJARD, 1970**).

Ce spectre d'acides aminés montre que la valeur biologique des protéines de la spiruline est très haute, et que l'optimum pourrait être atteint par complémentation avec une bonne source d'acides aminés soufrés et éventuellement de la lysine et/ou d l'histidine.

1.2.6.2- Lipides

1.2.6.2.1-Lipides totaux

Plusieurs publications ont donné une valeur de 5.6 à 7% du poids sec en lipides totaux. De meilleurs systèmes d'extraction, permettent d'obtenir des valeurs situées entre 6 et 13%.

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (**BUJARD, 1970**).

1.2.6.2.2- Acides gras

Le profil typique des acides gras de la spiruline est représenté dans le **tableau II**, on considère que chez l'homme, les besoins en acides gras essentiels sont de 1 ou 2% des calories alimentaires pour l'adulte et de 3% pour les enfants. Il est maintenant bien établi que l'apport de lipides essentiels influe (entre autres) sur le système immunitaire tant humoral que cellulaire. On range actuellement les acides gras essentiels en deux groupes « oméga-3 et oméga-6 » caractérisés par la position de l'insaturation la plus proche du groupe méthyl terminal. Comme les acides gras oméga-3 et oméga-6 sont convertis chez l'homme en dérivés biochimiques distincts qui semblent avoir des effets antagonistes, certains spécialistes recommandent actuellement un rapport oméga-6/oméga-3 situé entre 4 et 5 (FALQUET, 1996).

Un exemple concret de ces dérivés biochimiques c'est l'acide docosahexaénoïque et l'acide arachidonique. L'acide docosahexaénoïque (C22), qui fait partie de la famille oméga-3, ayant un rôle dans la réduction de l'hypertension et le rythme cardiaque. L'acide arachidonique (C20), qui fait partie de la famille oméga-6, c'est un précurseur des prostaglandines qui jouent un rôle vasoconstricteur.

Tableau II : Principaux acides gras de la spiruline (FALQUET, 1996).

Profil typique des acides gras de la spiruline (<i>Arthrospira.sp</i>)	
Acides gras	% des acides gras totaux
Palmitique (16:0)	25-60%
Palmitoléique (16:1) oméga-6	0.5-10%
Stéarique (18:0)	0.5-2%
Oléique (18:1) oméga-6	5-16%
Linoléique (18:2) oméga-6	10-30%
Gamma-linolénique (18:3) oméga-6	8-40%
Alpha-linolénique (18:3) oméga-3	Absent

1.2.6.3- Glucides

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche de la spiruline. L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9.7%) ou encore de glycogène (0.5%).

Les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités Ce sont le glucose, le fructose et le saccharose; on trouve aussi des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol.

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez la spiruline est le « méso-inositol phosphate » qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350-850 mg/kg mat. Sèche), cette teneur en inositol est environ huit fois celle de la viande de bœuf et plusieurs centaines de fois celle des végétaux qui en sont les plus riches (**FALQUET, 1996**). Cette molécule entre notamment dans la composition du phosphatidylinositol, un phospholipide de la membrane cellulaire. Après stimulation hormonale, le phosphatidylinositol est clivé en diacylglycérol (DAG) et inositol triphosphate (IP3). Chacun de ces deux composés sert de second messager pour relayer dans la cellule l'information hormonale, le rôle de cette molécule est primordial dans le système nerveux.

1.2.6.4- Acides nucléiques

La teneur en acides nucléiques

est un point nutritionnel important car la dégradation biochimique d'une partie de leurs composants (les purines : adénine et guanine) produit en dernier lieu de l'acide urique. Or une élévation du taux d'acide urique plasmatique peut produire à la longue des calculs rénaux et des crises de goutte.

Chez *A. Platensis* comme chez *A. Maxima*, on rapporte des valeurs de 4.2 à 6% d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche. La teneur en acides nucléiques de la spiruline est très inférieure à celle de la majorité des microorganismes unicellulaires (**FALQUET, 1996**). Le **tableau III** donne une idée de la teneur en acides nucléique totaux de quelques aliments.

Tableau III : Teneur en acides nucléiques de quelques aliments (FALQUET, 1996).

Aliments	Acides nucléiques totaux (% mat. sèche)
Viande de bœuf	1,5
Foie de bœuf	2,2
Spiruline	4 à 6
Levure	2,3

1.2.6.5-Vitamines

La β -carotène (provitamine A) représente 40 à 80% des caroténoïdes présents dans la spiruline, le reste étant composé principalement (par ordre décroissant) de xanthophylle, de cryptoxanthine, d'échinénone, de zéaxanthine et de lutéine. On trouve entre 700 et 2000 mg de beta-carotène et environ 100 à 600 mg de cryptoxanthine par kg de spiruline sèche, ces deux caroténoïdes sont convertibles en vitamine A par les mammifères. Les besoins en vitamine A sont estimés chez l'adulte à moins d'un mg par jour. La vitamine A intervient certainement d'une manière active dans les phénomènes vitaux qui assurent aux organismes surtout à une époque déterminée, une croissance normale, elle intervient également dans le phénomène de la vision crépusculaire. En effet, la rhodopsine, pigment photosensible des bâtonnets est constituée par l'aldehyde de la vitamine A (rétinène ou rétinol) (**RANDOIN et al, 1964**).

Une autre vitamine existe en quantité appréciable, la vitamine E. Sa teneur est comparable à celle du germe de blé, et estimée à 500 jusqu'à 190 mg par Kg de spiruline sèche. Les besoins quotidiens en vitamine E est de 12 mg de tocophérols libres. Les propriétés anti-oxydantes des tocophérols, pour les acides gras insaturés pourraient expliquer la bonne conservation de ces derniers dans la spiruline séchée. La fonction naturelle de la vitamine E est de protéger l'organisme contre les effets nocifs des radicaux libres. Ceux-ci sont produits lors de processus métaboliques normaux ou sous l'effet de facteurs environnementaux. Grâce à sa longue chaîne lipidique, la vitamine E se fixe au sein des membranes lipidiques, et c'est sa fonction phénolique qui est responsable de son activité antioxydante.

Bien que moins riche que la levure en vitamines du groupe B (exception pour la vitamine B12), la spiruline constitue pourtant une bonne source de ces cofacteurs, (tab. IV).

Tableau IV: Teneur en vitamines hydrosolubles dans la spiruline (FALQUET, 1996).

Vitamine	Teneur (mg/kg)	Besoin/jour (adulte) (24-25)
B1	34-50	1,5 mg
B2	30-46	1,5 mg
B6	5-8	2,0 mg
B12	0,10-0,34	0,003 mg
Niacine	130	20 mg
Folate	0,5	0,4 mg
Panthoténate	4,6-25	6-10 mg
Biotine	0,05	0,1-0,3
C	tracs	15-30mg

La levure de boulanger représente l'espèce type en matière de composition des vitamines. Le tableau V, permet de situer l'importance de la spiruline par rapport à sa teneur en vitamines hydrosolubles.

Tableau V : Teneur en vitamines hydrosolubles dans la levure de boulanger (RANDOUI, 1960 cité par MUNIER, 1973)

Vitamines	Teneur en mg/100g
C	5
B1	0.06
B2	0.05
Acide nicotinique (PP)	0.5
Acide pantothénique (B5)	0.24
B6	0.24

1.2.6.6 - Minéraux et Oligoéléments

Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium. La très haute teneur en fer de la spiruline cultivée (550-600 mg/kg) est à souligner doublement du fait que les carences en fer sont très répandues (anémies ferriprives), surtout chez les femmes (enceintes, allaitantes) et les enfants et que les bonnes sources alimentaires de fer sont rares (**BUJARD, 1970**). (**Tableau VI**).

Chez les animaux supérieurs, dont l'Homme, le zinc est essentiel au bon fonctionnement du *système immunitaire* et la carence en magnésium est très fréquente chez les enfants en malnutrition grave. Ainsi, la spiruline lutte contre diverses maladies associées à la malnutrition.

Le calcium joue un rôle biologique considérable en particulier dans la constitution des os et des dents mais également les humeurs et les tissus.

Le calcium intervient dans la coagulation sanguine et le bon fonctionnement des muscles et des nerfs. Les besoins en calcium chez l'enfant est de 500-800 mg, de 1300 mg chez l'adolescent, de 1000-1200 mg chez l'adulte et chez la Femme enceinte ou allaitante est de 1000 mg (**CLEMENT, 1978**).

1.2.7- Intérêts thérapeutiques de la spiruline

La consommation de la spiruline pourrait jouer un rôle dans la prévention de la transmission mère-enfant du VIH, grâce à la provitamine A (qui contrairement à la vitamine A, n'est pas toxique pour le fœtus en cas des surdosages).Ainsi, il a été démontré que cette transmission dépend de la déficience en vitamine A chez la mère ; plus la femme enceinte séropositive est carencée en vitamine A, plus que l'enfant serait probablement porteur du VIH(**FLAQUET.1996**). Aussi il a été démontré en laboratoire, que les principaux intervenants dans l'immunité se trouvent stimulés en présence de la spiruline. Ainsi, la rate et le thymus font preuve d'une fonction améliorées, des éléments importants du système immunitaire comme les cellules souches de la moelle osseuse, les macrophages, les lymphocytes T présentent une activité accrue (**KOZLENKO et HENSON, 1996**)

En plus de son utilité dans la prise en charge de la malnutrition et des personnes vivant avec le VIH, de nombreuses études de laboratoire et quelques études pré-cliniques indiquent

plusieurs autres effets thérapeutiques .Ainsi, elle pourrait être administrée comme complément des traitements médicaux en cas de diabète, d'hypercholestérolémie ou d'hypertension (FLAQUET.1996).

Outre ses effets stimulants du système immunitaire, la spiruline fait encore améliorer la capacité de l'organisme, en produisant de nouvelles cellules sanguines. En fin, le rôle de la spiruline apparaît comme protecteur contre certains cancers, ainsi que comme améliorants des états sanitaires des patients (FLAQUET, 1996).

Tableau VI: Teneur en oligoéléments dans la spiruline (FOX, 1999).

Minéraux	Teneur de la spiruline mg/kg)	Doses requises (mg/jour)
Calcium	1300-14000	1200
Phosphore	6700-9000	1000
Magnésium	2000-4000	2500-350
Fer	600-6000	18
Zinc	21-6000	15
Cuivre	8-2000	1,5-3
Chrome	2,8	0,5-2
Manganèse	25-37	5
Sodium	4500	500
Potassium	6400-15400	3500
Sélénium	0,01-50	0,05

1.2.8- Ecologie de la spiruline

La spiruline croît naturellement dans la ceinture tropicale du globe, entre 35°Nord et 35°Sud environ. Elle arbore plusieurs différences interspécifiques, selon son origine. Les deux espèces les mieux connues sont *A. platensis* et *A. maxim*. (Tableau VII).

Comme nous pouvons le voir sur le tableau 6, la spiruline peut même pousser dans des lacs volcaniques. Plus généralement, elle croît dès que l'eau est riche en carbonate ou bicarbonate de sodium, en d'autres minéraux et en source d'azote fixé. C'est pourquoi on peut en trouver aussi dans certains déserts, à l'endroit de ramassage de l'eau provenant occasionnellement des montagnes (FOX, 1999). En Algérie, selon Fox, elle est cultivée uniquement à Tamanrasset.

Tableau VII: Distribution géographique de la spiruline dans le monde (FOX, 1999).

Afrique	
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara
Asie	
Inde	Lacs Lonar et Nagpur
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Pakistan	Mares près de Lahore
Amérique	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Près de l'Ile d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lac Cratère
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
Europe	
France	Camargue

1.3- La spiruline ; conditions de culture

1.3.1-Bases techniques de la production

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

1.3.2- Milieu de culture

La spiruline pousse dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (toutefois sans excès de chlore à défaut de tuer les algues) ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. Une eau dure produira des boues minérales (plus ou moins abondantes selon la teneur en calcium, magnésium et fer), qui décantent rapidement et n'encombrent pas particulièrement la culture, à condition que l'ensemencement initial en spirulines soit assez concentré. La composition des milieux de culture peut varier énormément, selon la disponibilité des produits chimiques nécessaires à leur élaboration (JOURDAN, 1999). Le tableau VIII donne la composition chimique d'un milieu de culture typique (FOX, 1999) (Annexe 3).

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

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

1.3.3- Facteurs essentiels de la culture

1.3.3.1- Température

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

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

1.3.3.2- Lumière

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

* Ensemencer le bassin avec assez d'algues pour que la lumière ne puisse pas atteindre le fond du bassin. La vérification peut se faire avec un simple disque de Secchi.

* Agiter suffisamment la culture pour que les filaments individuels ne restent pas plus d'une demi-minute à la surface en plein soleil, mais plongent et remontent fréquemment. Les « roues à aubes » constituent les systèmes d'agitation les plus utilisés; le but est de remuer l'eau et non de créer un dénivellement comme on le croit généralement (**FOX, 1999**).

1.3.3.3- agitation

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

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

1.3.3.4- Salinité

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

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

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

1.3.3.5- pH

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

1.3.4- Nourriture minérale de la spiruline

En plus du sel et de la soude, le milieu de culture contient des engrais pour assurer la croissance des spirulines comme en agriculture habituelle : azote (N), phosphore (P), potassium (K) sont les trois principaux éléments, mais soufre (S), magnésium (Mg), calcium (Ca) et fer (Fe) doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas

apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais. Une analyse de l'eau et du sel est utile pour calculer la dose de Mg, Ca et Fe à ajouter car un excès de ces éléments est nocif (perte de phosphore, formation de boues). L'eau, le sel et les engrais apportent généralement assez d'oligoéléments (bore, zinc, cobalt, molybdène, cuivre, etc.).

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

1.3.5-Ensemencement

1.3.5.1-choix de la souche

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

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

1.3.5.2- Mesure de la concentration d'une culture de spiruline

La concentration d'une culture peut être évaluée par l'intensité de sa couleur. On utilise pour cela un "*disque de Secchi*": il s'agit d'une règle graduée à l'extrémité de laquelle se trouve fixé (perpendiculairement) un petit disque blanc. On plonge cet instrument dans la culture, jusqu'au point où le disque cesse d'être visible. La profondeur du disque est alors lue sur la règle graduée. Une culture est diluée si le

disque de Secchi reste visible au delà de 5-6 cm de profondeur; une valeur de 2-3 cm correspond à une culture prête à la production. Des valeurs inférieures à 2 cm indiquent qu'il est nécessaire de diluer la culture, ou de récolter fortement (FLAQUET.1996).

1.3.6- Récolte

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

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

1.3.7-Séchage

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

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

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

1.3.8- conditionnement

La spiruline sèche peut se conserver longtemps sans perdre trop de ses qualités à condition d'être stockée en sachets bien remplis et étanches, à l'abri de la lumière, de l'air et des fortes chaleurs.

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

1.3.9- Consommation humaine

La spiruline ne remplace pas les aliments caloriques tels que le manioc, le riz, le blé, la pomme de terre ou le maïs. La spiruline est consommée crue ou cuite (**fig.2**). Les personnes qui n'aiment pas l'odeur un peu forte de la spiruline sèche (odeur rappelant le poisson séché) préféreront la spiruline fraîche (ou congelée) (**FLAQUET.1996**).

La spiruline fraîche et crue est environ deux fois plus efficace que la spiruline séchée et trois fois plus que la spiruline séchée et cuite, car plus digeste et plus riche en certains éléments actifs comme le bêta-carotène, la phycocyanine, l'acide gamma-linoléique et le fer assimilable (**FOX, 1999**).



Figure 2 : Spiruline fraîche pour l'apéritif (FLAQUET.1996).

1.3.10- Suivi de la culture

1.3.10.1- Couleur

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

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

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

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

1.3.10.2- Renouvellement du milieu de culture

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

1.3.10.3-Anomalies

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

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

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

1.3.10.4-contamination de la culture

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

Des germes de moisissures sont toujours présents dans les cultures car des moisissures apparaissent régulièrement sur le flottant laissé longtemps sans agitation (**JOURDAN, 1999**).

1.3.10.5- Empoisonnement chimique de la spiruline

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

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

1.3.10.6- Maladies

Il arrive, très rarement, que des spirulines présentent des déformations, ou une boursouffure, ou alors des excréments jaunes à une extrémité ou sur un côté des filaments, faisant penser à un éclatement de la paroi avec épanchement du contenu des cellules (spirulines dites "étripées") (**fig3**). Dans la pratique, ces anomalies disparaissent d'elles-mêmes au bout de quelques jours de marche dans des conditions normales.

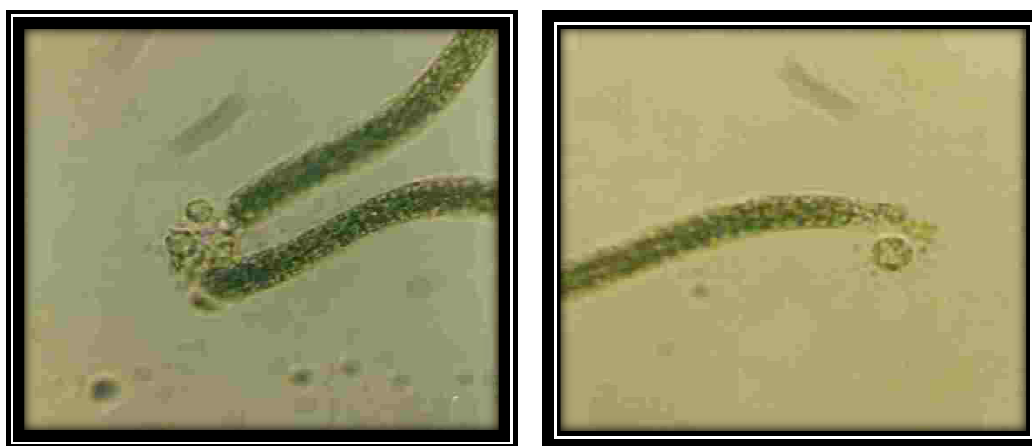


Figure 3 : spirulines "étripées" vues au microscope (JOURDAN, 1999).

1.3.11- Systèmes de culture

Quelques règles doivent être respectées pour construire un bassin de culture de la spiruline ; pas sous des arbres, ni en un lieu inondable, ou près d'une industrie (pollution. Un terrain plat facilitera le travail, de même que la proximité de l'eau..

Le bassin ne doit pas comporter d'angles vifs, mais des formes arrondies (au moins aux extrémités dans le cas de bassins rectangulaires). Le fond doit être aussi plan que possible, avec une très légère pente vers un endroit plus creux d'accès facile (pour faciliter la vidange). Les bords du bassin doivent être au dessus du niveau du terrain, pour réduire l'entrée des poussières et des animaux (**JOURDAN, 1999**).

1.3.11.1- Systèmes artisanaux :

Selon les pays, les matériaux de construction diffèrent. Des palmes utilisées en Inde et au Zaïre contre un ensoleillement trop intense, au film transparent protégeant le bassin du sable au Chili, le principe en est simple : bassin imperméabilisé, recouvert de préférence, dans lequel on contrôle les paramètres physico-chimiques, avec un apport de carbone suffisant ; l'objectif étant de produire le maximum au moindre coût.

Pour de petits bassins de moins de 500m², on peut utiliser plusieurs méthodes. Les bassins en dur sont faits avec du béton renforcé, du ciment, des pierres cimentées, des parpaings, des briques, etc. Ce sont les plus durables et les plus faciles à nettoyer, mais aussi les plus chers. Sinon on peut aussi couvrir un sol nivelé avec un film plastique. Les bassins sans garniture intérieure ne sont pas satisfaisants, car on retrouve des grains de sable fin ou des particules d'argile dans le produit fini du fait de l'agitation. Les films plastiques sont les plus commodes, mais, ils représentent, cependant, un inconvénient majeur, si le taux de CO₂ dissous dans l'eau pour une croissance optimale ; on obtient 6 à 14 grammes par m² et par jour d'algue séchée. La culture étant limitée par l'apport en carbone et l'agitation insuffisante pour une production élevée, ce système n'est plus utilisé.

1.3.11.2-Fermes industrielles

La plus grande ferme industrielle se trouve aux Etats-Unis, en Californie ; c'est *Earthrise Farm*, qui couvre une superficie de 108 acres (mesure de surface agraire qui équivaut à 40,47 ares dans les pays anglo-saxons), et approvisionne 40 pays en spiruline et produits dérivés. En 1996, sa production est estimée à 500 tonnes de poudre sèche.

Les systèmes avancés de bassins requièrent d'énormes superficies, jusqu'à 5000m² pour une profondeur usuelle de 15 à 25cm. Ils nécessitent aussi plus d'investissement, mais produisent en conséquence de la spiruline de très bonne qualité. La production de la spiruline est en fait internationale, contrairement à ce que l'on pourrait croire (FOX, 1999).

1.3.11.3- Nombre et surface des bassins

Mieux vaut construire deux ou plusieurs petits bassins qu'un seul grand : ainsi on pourra en vider un (pour le nettoyer ou le réparer par exemple) sans perdre son contenu, et si une des cultures se contamine, n'est pas en bonne santé ou meurt, l'autre permettra de continuer et de réensemencer. Il peut être aussi pratique de puiser dans un bassin pour filtrer sur un autre. Un bassin de service est par ailleurs utile pour préparer les milieux de culture et effectuer des transvasements, ou pour évaporer des purges en vue de recycler les sels, mais il n'est pas absolument nécessaire.

2.1 Matériel et méthodes**2.1.1- Matériel d'étude****2.1.1.1- Matériel biologique**

Ce travail sur la spiruline (*Arthrospira .sp*) a démarré à partir d'une quantité de 6 litres de culture de spiruline en très bon état et avec une coloration verte virant au bleu.

L'espèce *Arthrospira sp* nous a été fournie par la ferme de Mr. **HIRI Abdelkader** à Tamanrasset, où, elle est cultivée à moyenne échelle, puisque sa production ne dépasse pas la consommation familiale.

2.1.1.2- Matériel de laboratoire**2.1.1.2.1- Petit matériel**

- Balance
- PH mètre
- Conductivimètre
- Microscope optique connecté à un micro-ordinateur
- Tamis de 0.01mm
- Thermomètre
- Verrerie (Bécher, tubes à essai...)

2.1.1.2.2- Matériel de culture

- 4 records électriques
- 2 pompes à deux sorties
- 4 robinets à quatre sorties
- 16 tuyaux
- 12 diffuseurs
- 12 bidons à 5 litres.
- 2 aquariums
- 100 litres de milieu de culture
- 4 ampoules à 40W (source de chaleur)
- 2 néans.
- Plastique pour la couverture

2.1.2- Méthodes du travail

2.1.2.1- Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental a été structuré de manière à ce que la température et l'éclairage soient convenables (**Photo n° 1**). Sa réalisation est faite comme suit:

- Les douze bidons sont répartis entre les deux aquariums. Chaque bidon est relié à un diffuseur, dont le rôle est d'homogénéiser l'aération. Ce diffuseur est commandé par un robinet relié à une pompe.
- Les outils d'éclairage sont fixés sur le toit du dispositif expérimental.



Photo n° 1 : mise en place du dispositif expérimental.

- Le nettoyage des matériaux utilisés (bidons et aquarium) est indispensable pour éviter l'introduction des impuretés dans la culture.

2.1.2.2- Préparation de la culture de la spiruline

2.1.2.2.1- Préparation du milieu de culture

La présente étude consiste à soumettre la spiruline à un stress salin. Il s'agit de cultiver la spiruline dans des milieux de culture qui diffèrent par leur teneur en sel.

Nous avons à cet effet adopté quatre degrés croissants de salinité, la réalisation de cette opération s'effectue par l'ajout du sel de cuisine à l'eau du sénonien, le tableau **IX** indique le dispositif expérimental utilisé.

Tableau IX: Dispositif expérimental.

Dose MC	Dose de Na⁺⁺ en g/l	L'ajout du sel en g/20l	Nbre des bidons
D ₀	0	0	
D ₁	13	260	
D ₂	26	520	
D ₃	39	780	

L'ajout de sels est fonction de la dose recherchée (D1, D2, D3), D0 représente le témoin.

2.1.2.2.2 - Eau du sénonien

La nappe du sénonien est l'une des quatre nappes existant à Ouargla. Elle est située à une profondeur de 120 m en moyenne. Sa température est de 30⁰C à la surface.

Le choix de l'eau de sénonien comme milieu de culture est justifié par les travaux qui ont été effectués par SAGGAI (2008), dont l'étude a montré que cette eau permettait de donner la meilleure croissance de la spiruline.

Cette eau provient de la station de forage de « l'abattoire Château ». Ses caractéristiques physico-chimiques sont indiquées dans le tableau X.

Tableau X: Caractéristique physicochimique de l'eau de la nappe du sénonien (A.N.R.H, 2007).

Elément	mg/l
Ca⁺⁺	198.8
Mg⁺⁺	121.6
Na⁺	457.5
K⁺	22.5
Cl⁻	690
(SO4)₂	912.5
(CO3)₂	00
(HCO3)₂	103.70
(NO3)₂	37.2
T.H(F⁰)	99.7
Minéralisation (mg/l)	2011.35
CE 25⁰ C (ms/cm)	2.68
pH	7.81

2.1.2.2.3- Enrichissement du milieu de culture en éléments minéraux

Le milieu de culture utilisé a été enrichi en certains éléments minéraux (**Tableau XI**).

Tableau XI : Composition chimique du milieu de culture (SAGGAI, 2008).

Elément	g/100 litres d'eau
Sulfate de Magnesium ($MgSO_4$)	20
Sulfate d'Ammonium ($SO_4(NH_4)_2$)	20
Sulfate de Potassium (K_2SO_2)	10
Sulfate de Fer ($FeSO_4$)	0.1
Natron (Bicarbonate)	1600

2.1.2.3- Ensemencement de la spiruline

Nous avons démarré l'expérimentation avec un volume de 500 ml de spiruline souche, auquel nous avons ajouté un volume de 150 ml de milieu de culture jusqu'à l'obtention au moment de la récolte, de 4litrs de spiruline dans chaque bidons (**Tableau XII**). Le principe de l'ajout de milieu de culture consiste à additionner au volume de la culture, un volume du milieu de culture équivalent au $\frac{1}{4}$ du volume de culture précédente.

**Photo n° 2 : Bidons remplis de spiruline souche et de milieu de culture.**

L'ajout du milieu de culture ne se fait quotidiennement, mais après s'être assuré du bon état de la culture afin d'éviter la dilution de celle-ci (**Tableau XII**).

Tableau XII: Stratégie de l'ajout du milieu de culture.

	Ajout de milieu de culture (ml)	
1	500	150
2	650	200
3	850	250
4	1100	300
5	1400	400
6	1800	500
7	2300	700
8	3000	1000
	4000	

2.1.2.4- Suivi de la culture

Le contrôle journalier de la culture, du fonctionnement du dispositif et la mesure de la température, du pH et de la conductivité électrique, nous permettent de suivre la culture et d'éviter les accidents potentiels.

2.1.2.4.1-Contrôle du matin

Il s'agit dans un premier temps de vérifier l'état général des installations à savoir le fonctionnement de l'éclairage, fonctionnement des pompes et de noter les observations.

Ensuite, il faut relever les températures dans l'aquarium et dans chaque bidon, après cela, on doit arrêter les pompes d'agitation afin d'éviter la fragmentation de la spiruline.

Il est indispensable de vérifier l'état de la culture ; couleur et odeur, diluer les grumeaux en surface ou sur les parois des bidons avec l'agitation manuelle si nécessaire pour homogénéiser la culture.

En fin, on effectue un prélèvement de la culture pour mesurer le pH et la CE, le recouvrement des aquariums est nécessaire pour le maintien de la température.

2.1.2.4.2- Contrôle de l'après-midi

Nous réalisons le même suivi que celui effectué le matin, puis nous remettons en marche les pompes et l'éclairage.

2.1.3 - Méthodes d'analyse

2.1.3.1-Analyses physico-chimiques

2.1.3.1.1- pH

On procède à la mesure du pH de la culture deux fois par jour. Le principe consiste à introduire l'électrode d'un pH mètre dans un volume donné de la culture, ensuite, on lit directement la valeur du pH dans le cadre du pH mètre (AUDIGIE, 1984).

2.1.3.1.2- Conductivité électrique

La conductivité électrique exprime l'aptitude d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique, cette aptitude dépend des ions dissouts dans la solution.

La mesure de conductivité électrique se fait avec le même volume utilisé pour la mesure du pH, les résultats sont exprimés en **ms/cm**.

La minéralisation globale est déterminée en connaissant la conductivité de la solution et en fonction de sa valeur, on applique l'une des formules figurantes dans le **tableau XIII (Annexe 1;2)**.

Tableau XIII: Détermination de la minéralisation globale (RODIER.J, 1996)

C E ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	Minéralisation (mg/l)
< 50	1.365079 x CE à 20 °C
50 à 166	0.947658 x CE à 20 °C
166 à 333	0.769574 x CE à 20 °C
333 à 833	0.715920 x CE à 20 °C
833 à 1000	0.758544 x CE à 20 °C
> 10 000	0.850432 x CE à 20 °C

2.1.3.1.3- Matière sèche

La matière sèche est le résidu résultant de l'évaporation de l'humidité du produit, (AUDIGIE, 1984).

Elle est obtenue par la dessiccation du produit à une température de 105°C dans une étuve ventilée à la température atmosphérique jusqu'à une masse constante. La teneur en matière sèche est exprimée en pourcentage :

$$MS\% = \left(\frac{M1 - M0}{M2 - M0} \right) \times 100$$

M_0 : masse de capsule vide (g).

M_1 : masse de la capsule et de résidu après dessiccation (g).

M_2 : masse de la capsule et de la prise d'essai (g).

2.1.3.1.4- Cendres

Les cendres représentent le produit résultant de la minéralisation par incinération de la matière sèche de l'échantillon dans un four à moufle à 500 °C pendant 2 à 3 heures (AUDIGIE, 1984).

Le taux des cendres est donné par la formule ci-après

$$\text{Taux des cendres} = \frac{\text{Poids des cendres}}{\text{Poids de la substance initiale}} \times 100$$

2.1.3.1.5- Eléments minéraux

Le dosage des principaux minéraux (Ca^{++} , Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Fe^{++}) s'effectue par spectrophotométrie à flamme.

Le principe se base sur la capacité des atomes d'absorber de l'énergie, qui fait passer des électrons sur des niveaux supérieurs (états excités). Le retour des électrons à leur place initiale (état fondamental) s'accompagne de la restitution de l'énergie potentielle sous forme d'ondes électromagnétiques. L'ensemble de ces ondes constitue le spectre d'émission.

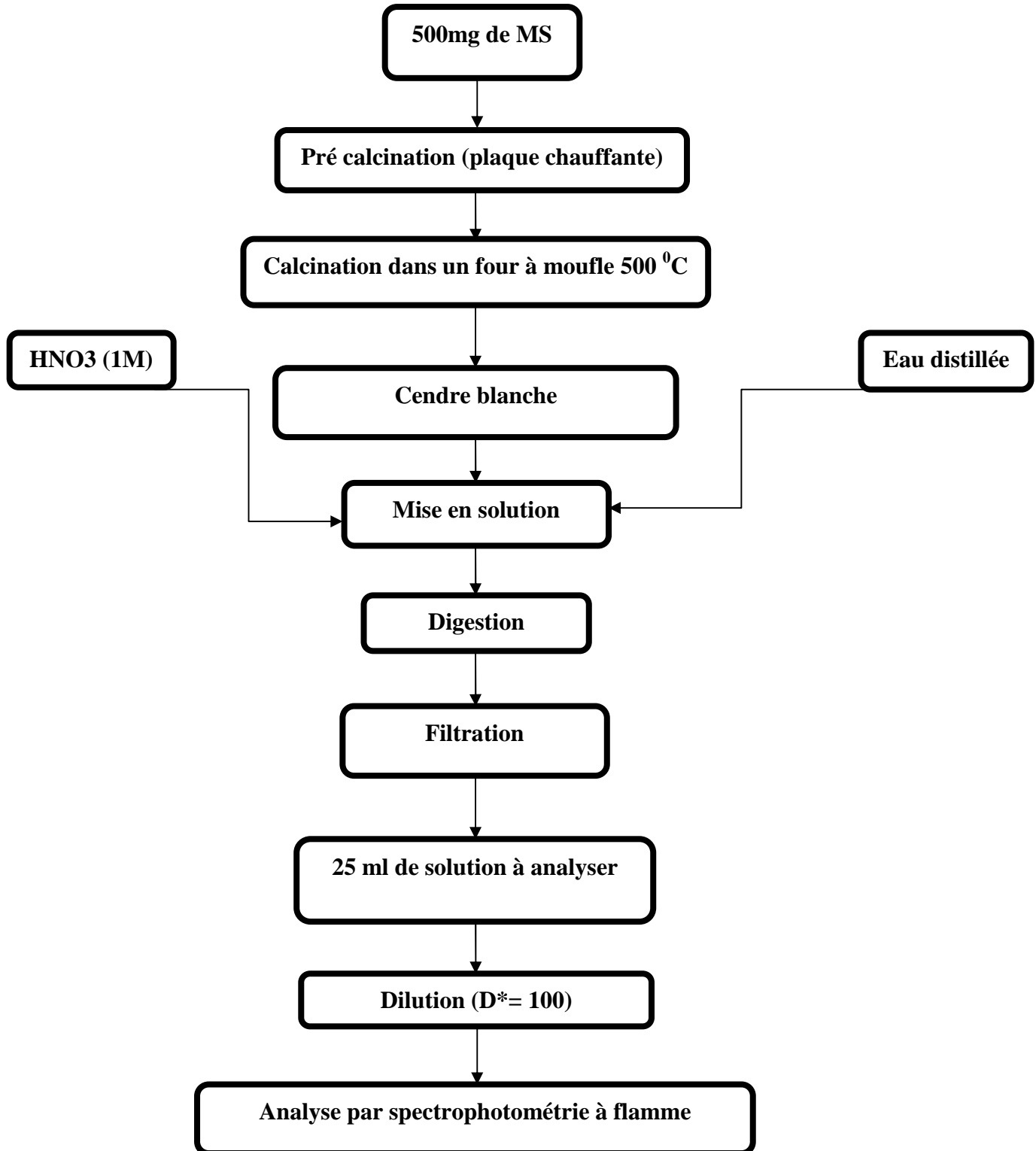


Figure 4 : Dosage de Ca^{++} , Na^{++} , K^+ , Mg^{++} , Fe^{++} .