



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar El -OUED
كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
البيولوجيا الخلوية والجزيئية
Département de biologie cellulaire et moléculaire



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
biologiques

Spécialité: Biochimie Appliquée

THEME

Contribution à l'étude de la culture d'*Arthrospira platensis* à base de NPK 15-15-15 en vue d'améliorer sa composition biochimique isolée à partir de la région de Biskra

Présenté Par : BEDRA Halima

BETTAYAB Sana

Devant le jury composé de

Président : SAADI H M.A.A, Université d'El Oued.

Examinatrice : BOUKHARI .D M.A.A, Université d'El Oued.

Promoteur : KIRAM .A M.A.A, Université d'El Oued.

Année académique : 2020/2021

Remerciements

**Nos remerciements vont tout d'abord à ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné
la volonté, la patience et le courage de réaliser ce modeste travail**

*Nous tenons à remercier en premier lieu notre encadreur Dr.
KIRAM. A pour son aide précieuse et ces conseils judicieux.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury
..... pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en
acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs
propositions*

*Nous remercions également le personnel du laboratoire, dirigé par
l'ingénieur GOBI. S, pour les efforts qu'ils ont déployés pour nous aider
à accomplir ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les
professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences ont
soutenu dans la poursuite de nos études.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont
participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



Dédicaces

Je dédie le fruit de mes efforts à ceux qui ont veillé sur mon éducation et mon éducation et leurs prières pour moi. J'ai atteint ce rang. Ma mère, qui m'a soutenu tout au long de mes années scolaires pour son sacrifice et son soutien, m'a donné confiance, courage et sécurité. A celui qui a sculpté dans l'esprit de la morale...à la prunelle de mes yeux...au présent toujours dans mon cœur...à mon cher père, que Dieu l'honore et prolonge sa vie. M'a donné un lien.

A qui je vois de l'espoir, de la sérénité et de l'innocence dans leurs yeux, la machine de ceux que j'ai grandis parmi mes frères : Ibtissam, Kawthar, Souso et Muhammad.

A ceux dont l'amour coule dans mes veines et chante leur souvenir de mon cœur A : Ma grand-mère est Tourkia et ma tante Karima.

A toute ma famille

A mon fiancé, mon âme sœur : Djemoi

A mon collègue : Sana

À tous mes amis: Soumia, Tourkia, Hadjer, Zohra, Asma, Nora, Aïcha...

A tous les maîtres et les professeurs durant tout mon cursus

A tous qui m'aide de près ou de loin.

Halima

Dédicace

Dédicace

C'est avec joie que je dédie le fruit de mon travail à l'âme pure de mon père .MOHAMMED. Et a celle qui ma toujours soutenue dans mon travail, ``ma mère` SALIMA que j'aime beaucoup.

A ceux qui m'ont toujours soutenu , mon cher mari.

Je dédie également ce modeste travail

A mes frères et mes sœurs (wiam, sif-eldinne, hadil)

A mes tentes et mes oncles et mes cousins

A Toute la famille: BETTEYAB et GOSSA

A toutes les collègues et ma promotion 2021

A tous mes amies

A mon binôme a HALIMA

Merci à tous

B.SANA



Résumé

La spiruline (*arthrospira platensis*) est une algue microscopique de 0.3mm de long bleu-vert, pousse naturellement dans certains lacs chauds et alcalins du Tchad et du Mexique, qui vit de photosynthèse comme les plantes. Dans cette étude qui est réalisé en laboratoire d'université d'Eloued pour évalué la croissance et la qualité nutritionnelle (biochimique) d'*Arthrospira platensis* cultivé à partir de milieu de culture à base NPK. La culture a été réalisée dans les mêmes conditions de température 32°C, pH de 9à10 et une agitation en continu à l'aide d'une pompe à aire, avec le milieu enrichi en éléments nutritifs (milieu Zarrouk) comme milieu témoin et autre milieu de culture à base d'engrais est le milieu NPK. Après 15 jours de culture, la productivité de la biomasse journalier d'*Arthrospira platensis* est de 1.35g/l et 1.03g/l pour respectivement dans le milieu Zarrouk et le milieu NPK. L'évaluation de la qualité nutritionnelle de la spiruline *platensis* a montré qu'il n'y a pas de différence significative entre la spiruline en milieu Zarrouk et le NPK. Les analyses biochimiques ont montré que le dosage de protéine réalisé sur la spiruline dans les deux milieux a montré que cette souche riche en protéine avec un taux de 64% et 58.3% pour les deux milieux, milieu Zarrouk et NPK respectivement, la valeur de carbohydrate est de 24.2% dans milieu Zarrouk et 27.9% pour le milieu NPK. Mais la spiruline est un aliment à faible apport calorique, nous avons remarqués que les résultats trouvés allaient 5.9% et 2.3% pour le milieu Zarrouk et le NPK respectivement. la concentration en phycocyanine est de 38mg en milieu Zarrouk et 18mg pour le milieu NPK. Notre présent travail nous a permis de mieux connaître que cette souche est très riche en protéine et aussi de formuler un milieu de culture simple et peu coûteux à base d'engrais le NPK : 15 :15 :15 pour la production d'une bonne masse de *spirulina platensis* avec une bonne qualité nutritionnelle (biochimique).

Mots clés : *spirulina platensis*, milieu Zarrouk, NPK, productivité de biomasse, protéine, lipide, phycocyanine.

Abstract

Spirulina (Arthrospira platensis) is a microscopic 0.3mm long blue-green algae, grows naturally in some hot and alkaline lakes of Chad and Mexico, which photosynthesize like plants. In this study which is performed in the Eloud University laboratory to assess the growth and nutritional (biochemical) quality of *Arthrospira platensis* grown from NPK-based culture medium. The culture was carried out under the same conditions of temperature 32 ° C, pH of 9 to 10 and continuous stirring using an area pump, with the medium enriched in nutrients (Zarrouk medium) as control medium and the like. Fertilizer-based culture medium is NPK medium. After 15 days of culture, the daily biomass productivity of *Arthrospira platensis* is 1.35g / l and 1.03g / l for respectively in Zarrouk medium and NPK medium. The evaluation of the nutritional quality of *spirulina platensis* showed that there is no significant difference between spirulina in Zarrouk medium and NPK. The biochemical analyzes showed that the protein assay carried out on spirulina in the two media showed that this protein-rich strain with a rate of 64% and 58.3% for the two media, Zarrouk medium and NPK respectively, the carbohydrate value is 24.2% in Zarrouk medium and 27.9% for NPK medium. But *spirulina* is a food with low calorie intake, we noticed that the results found were 5.9% and 2.3% for Zarrouk medium and NPK respectively; the phycocyanin concentration is 38mg in Zarrouk medium and 18mg for NPK medium. Our present work has allowed us to better understand that this strain is very rich in protein and also to formulate a simple and inexpensive culture medium based on NPK: 15:15:15 for the production of a good mass. of spirulina platensis with good nutritional (biochemical) quality.

Key words: *spirulina platensis*, Zarrouk medium, NPK, biomass productivity, protein, lipid, phycocyanin.

ملخص

سبيرولينا (*arthrospira platensis*) هي طحالب مجهرية طولها 0.3 مم ، زرقاء وخضراء ، تنمو بشكل طبيعي في بعض البحيرات الساخنة والقلوية في تشاد والمكسيك ، والتي تقوم بعملية التمثيل الضوئي مثل النباتات. في هذه الدراسة التي يتم إجراؤها في مختبر جامعة Eloud لتقييم النمو والجودة التغذوية (البيوكيميائية) لأرثروسبايرا بلاتنسيس المزروعة من وسط مستنبت قائم على NPK. تم إجراء الاستزراع تحت نفس ظروف درجة الحرارة 32 درجة مئوية ، ودرجة الحموضة 9 إلى 10 والتحرك المستمر باستخدام مضخة منطقة ، والوسط المخصب بالمواد المغذية (وسط زروق) كوسيط تحكم وما شابه. متوسط NPK بعد 15 يومًا من الاستزراع ، تبلغ إنتاجية الكتلة الحيوية اليومية لأرثروسبيرا بلاتنسيس 1.35 جم / لتر و 1.03 جم / لتر على التوالي في وسط زروق ووسط NPK. أظهر تقييم الجودة الغذائية لسبيرولينا بلاتنسيس أنه لا يوجد فرق معنوي بين سبيرولينا في وسط زروق و NPK. أظهرت التحليلات الكيميائية الحيوية أن فحص البروتين الذي تم إجراؤه على السبيرولينا في الوسطين أظهر أن هذه السلالة الغنية بالبروتين بمعدل 64% و 58.3% للوسيطين ، وسط زروق و NPK على التوالي ، قيمة الكربوهيدرات 24.2% في زروق متوسط و 27.9% للنيتروجين المتوسط. لكن سبيرولينا غذاء منخفض السعرات الحرارية ، لاحظنا أن النتائج التي تم العثور عليها كانت 5.9% و 2.3% لوسط زروق و NPK على التوالي ؛ تركيز الفيكوسيانين هو 38 ملغ في وسط زروق و 18 ملغ لوسط NPK. لقد أتاح لنا عملنا الحالي أن نفهم بشكل أفضل أن هذه السلالة غنية جدًا بالبروتين وأيضًا صياغة وسط استزراع بسيط وغير مكلف يعتمد على NPK: 15:15:15 لإنتاج كتلة جيدة. السبيرولينا بلاتنسيس مع تغذية جيدة الجودة (البيوكيميائية).

الكلمات المفتاحية: سبيرولينا بلاتنسيس ، وسط زروق ، NPK ، إنتاجية الكتلة الحيوية، بروتين، دهون، فيكوسيانين.

Sommaire

Remerciements.....	
Dédicace.....	
Résumé.....	
Sommaire.....	
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste d'abréviations.....	
Liste des annexes.....	
INTRODUCTION GENERAL.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معروفة.

Partie I: Synthèse bibliographique

Chapitre I: La spiruline

I. Généralité su la spiruline	3
1. Définition.....	3
2. Appellation	3
3. Historique :	4
II. Biologie de la spiruline :.....	7
1. Caractéristiques structurales :.....	7
2. Classification :	8
3. Croissance :.....	9
4. Ecologie :.....	9
5. Reproduction :	10
6. Déplacement :	10
III. Intérêts et utilisation de la spiruline :	11

Chapitre II: La biochimie de spiruline

I-compositions biochimiques de spiruline	12
1. Composition en protéines	12
2. Composition en lipides	13
2.1. Fraction saponifiable « Acides gras ».....	13
2.2 La fraction insaponifiable	14
3. Glucides.....	14
3.1. Glucides simples et polyols à petites molécules.....	15

3.2. Glucosanes aminés et Rhamnosanes aminés	15
3.3.Cyclitols	15
3.4.Glucides des parois cellulaires.....	15
3.5.Polysaccharides sulfatés	16
3.6.Immulina.....	16
4. Composition en acides nucléiques.....	16
5. Vitamines.....	16
5.1. Vitamines liposolubles.....	17
5.2.Les vitamines hydrosolubles.....	17
6. Minéraux et oligoéléments	18
7. Pigments	20
7.1. Caroténoïdes (pigments jaune-orange)	21
7.2. Chlorophylle (pigment vert)	21
7.3.Phycoyanine (pigment bleu)	21
8. Enzymes	22
II. culture de spiruline	22
1. Paramètres influençant la croissance de la spiruline :	22
1.1 Facteurs climatiques : Température et Lumière :	23
1.2. Milieu de culture :.....	23
1.3 L'agitation :	24
1. La phycocyanine :.....	24
1.1. Phycobilisome :	24
1.2. Phycobiliprotéines :	25
2. Propriétés physico-chimiques de la Phycocyanine :	26
IV. La photosynthèse de spiruline.....	27
V. Différentes méthodes d'extractions de phycocyanine :	29
1. Extraction par l'eau :	29

2. Extraction par sonification :	29
3. Extraction par congélation :	30
4. Extraction par solvant.....	30
5. Extraction par séparation aqueuse à double phase	31
6. Extraction par macération dans le glycérol	31

Partie II: Etude expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I. Matériel.....	32
1. Matériel biologique :	32
2. Matériel non biologique :	32
2.1. Appareillage.....	32
2.2. Petit matériel.....	32
2.3. Matériel chimique.....	32

Chapitre II: Résultats et discussions

II. Méthodes	34
1. Préparation milieu de culture.....	34
2. Suivi de culture.....	36
3. Dosage nutritionnelle.....	37
3.1. Dosage de protéine	37
3.2. Dosage de lipide	38
3.3. Détermination du taux de sucres totaux.....	38
3.4. Extraction et quantification phycocyanine	38
1. Suivi de la culture	40
2. Evolution de la biomasse de <i>spirulina platensis</i>	42
3. Résultats des analyses biochimiques	43
CONCLUSION GENERALE.....	46
Références bibliographiques.....	48
Annexes.....	

Liste des figures

N°	Intitulé	Page
01	La spiruline	03
02	les différentes formes de spiruline	07
03	Filaments des deux espèces de spiruline observés au microscope optique	08
04	Cycle biologique de spiruline	09
05	Structures chimiques de la phycocyanine, de la phycocyanobiline et de la bilirubine	22
06	Représentation schématique d'un phycobilisome classique	25
07	Molécules de phycocyanobiline	26
08	2 hexamères de C-phycocyanine dans l'unité asymétrique vue selon l'axe b	27
09	mesure des réactifs chimiques pour les deux milieux de culture	34
10	préparation des réactifs en solution mère	34
11	mélange des réactifs du milieu de culture	35
12	les cultures de spiruline dans les deux milieux	35
13	la culture en petit échelle pour les deux milieux	40
14	La culture en grand échelle	40
15	Observation microscopique de la souche <i>Arthrospira sp</i>	41
16	Evolution de la biomasse de <i>spirulina platensis</i> dans les deux milieux	42
17	Composition nutritionnelle générale de la <i>Spirulina platensis</i> cultivée sur le milieu Zarrouk et NPK.	43
18	le pourcentage en phycocyanine dans le milieu Zarrouk et le milieu NPK	45

Liste des tableaux

N°	Intitulé	Page
01	Les diverses appellations de la spiruline	04
02	Résumé de plusieurs descriptions d' <i>Arthrospira platensis</i>	06
03	Classification Zoologique du <i>spirulina platensis</i>	08
04	Comparaison des valeurs protéiques de la spiruline et de la caséine résumées	13
05	Tableau représentant le pourcentage des principaux acides gras de la spiruline modifiée	13
06	Teneur moyenne et principales fonctions des vitamines liposolubles de la spiruline	17
07	Teneur moyenne et principales fonctions des vitamines hydrosolubles de la spiruline	17
08	Teneur moyenne et principales fonctions des minéraux et des oligoéléments de la spiruline	19
09	Teneur moyenne et principales fonctions des pigments de la spiruline	20
10	les compositions chimiques en gramme par litre d'eau au milieu Zarrouk	33
11	La composition de solution A5 et B6 dans le milieu Zarrouk	33
12	Caractères morphologiques d' <i>Arthrospira sp</i>	41
13	les conditions de culture au cours de la croissance de spiruline	42

Les abréviations

%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
PS I	Photosystème I
PS II	Photosystème II
PC	Phycocyanine
DO	Densité optique
OMS	Organisation Mondiale de santé
Hγ	énergie lumineuse
NADP+	Nicotinamide Adénine Di-nucléotide Phosphate.
pH	potentiel hydrique
UV	ultra-violet
P	Protéine
UNESCO	Organisation des nations unies pour l'éducation, la science et la culture
FDA	Food and Drug administration
ONU	Organisation des nations unies
OMS	Organisation mondiale de la santé
L	Lumière
EDTA	Acide éthylène diamine tétracétique
NPK	L'azote phosphore et potassium
ATP	Adénosine triphosphate
APC	Allophycocyanine
PE	Phycoérythrine
PbP	Phycobiliprotéine
TCS	est le taux de croissance spécifique.

Liste des annexes

N°	Intitulé
01	répartition géographique de <i>spirulina platensis</i>
02	Méthode de dosage de protéine
03	Les types des appareils utilisés au cours de l'expérimentation.

Introduction Général

Introduction Générale

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine et présentent le principal moyen par lequel les individus se soignent (Badiage, 2011). Depuis la nuit des temps, il existe sur Terre une source nutritionnelle et thérapeutique naturelle sans égale. Richesse protéique, acides aminés essentiels, acides gras essentiels, complexes vitaminiques multiples, fer biodisponible, activités antioxydantes, antiinflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immunomodulatrices, tout ceci condensé dans une simple algue bleue microscopique nommée *Spirulina platensis* ((Babu Et al., 2005; Parikh Et al., 2001, 2001 ; Ramirez Et al., 2002).

La spiruline est une algue microscopique de 0.3mm de long bleu-vert de par la présence de chlorophyle (vert) et de phycocyanine(bleu) contenue dans les phycobilisomes, pousse naturellement dans certains lacs chauds et alcalins du Tchad et du Mexique, qui vit de photosynthèse comme les plantes. Elle est cultivée dans le monde pour ses qualités nutritionnelles et thérapeutiques plus riche en protéines que la viande (Jourdan, 2006).

Elle est consommée depuis les temps les plus reculées par diverses populations du monde (Tchad, Mexique, Inde). Selon la région on a pu décrire de nombreuses souches (Paracas, Lonar, ...). La spiruline est présentée comme le meilleur aliment pour l'avenir « *the best food for the future* » lors de la conférence des Nations Unies sur l'Alimentation en 1974. Pour l'UNESCO, elle est considérée comme « l'aliment idéal et le plus complet de demain » et « l'une des meilleures sources de protéines » pour la FDA, la spiruline est mise en avant par plusieurs structures au sein de l'ONU et de l'OMS pour son utilisation dans la lutte contre la malnutrition aigüe dans le monde. (Lounici, 2010).

Connue par les scientifiques depuis plusieurs décennies pour sa richesse nutritionnelle. Riche en nutriments tel que protéines, glucides, lipides, vitamines et minéraux, la culture de la spiruline pourrait être une solution pour améliorer la santé humaine, la nutrition notamment dans les pays du tiers-monde et également pour développer des cultures industrielles. Cette cyanobactérie semble actuellement l'une des meilleurs solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité et, du fait, de grandes entreprises se sont lancées dans la culture de cet organisme à une échelle industrielle(Sguera, 2008).

En Algérie, la production de la spiruline est très faible en raison de cout de sa production, l'utilisation de la NPK peut diminuer le prix de la spiruline au marché national.

Introduction Générale

Donc dans notre étude en va voire est-ce-que en peut dont une bonne formulation de milieu de culture à base de NPK pour produire la spiruline de bon qualité nutritionnelle (biochimique) et de bon prix ?

L'objectif de ce présent travail s'inscrit dans le cadre de l'amélioration de bonne qualité nutritionnelle d'*Arthrospira platensis* cultivé à partir de milieu de culture à base NPK pour réduire le cout des milieux de culture.

A partir de ce principe, notre recherche comportera :

Une introduction générale suivie d'un premier parti bibliographique comprend deux chapitres dans laquelle sont présenté un aperçu sur la spiruline, mais le deuxième sur la biochimie de spiruline. Une seconde partie est consacrée à la partie expérimentale, dans laquelle présente les matériels et méthodes de notre étude, après résultats et discussions. Ce travail sera clôturé par une conclusion et des perspectives.

Partie 01:
synthèse
bibliographique

Chapitre I

La spiruline

I. Généralité su la spiruline

1. Définition

La spiruline est un petit être aquatique (0,3 mm de long), vieux comme le monde dont le nom scientifique est "cyanobactérie *Arthrospira platensis*" est une algue microscopique qui pousse naturellement dans certains lacs chauds et alcalins du Tchad et du Mexique, qui vit de photosynthèse comme les plantes. Elle est cultivée dans le monde pour ses qualités nutritionnelles et thérapeutiques. plus riche en protéines que la viande, la spiruline est maintenant cultivée dans de grandes usines aux U.S.A., en Inde, en Chine, en Thaïlande, etc., car on lui découvre toujours plus de qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé (Jourdan, 2006; Girardin-Andréani, 2005; Tiendrebeogo Et al., 2015).

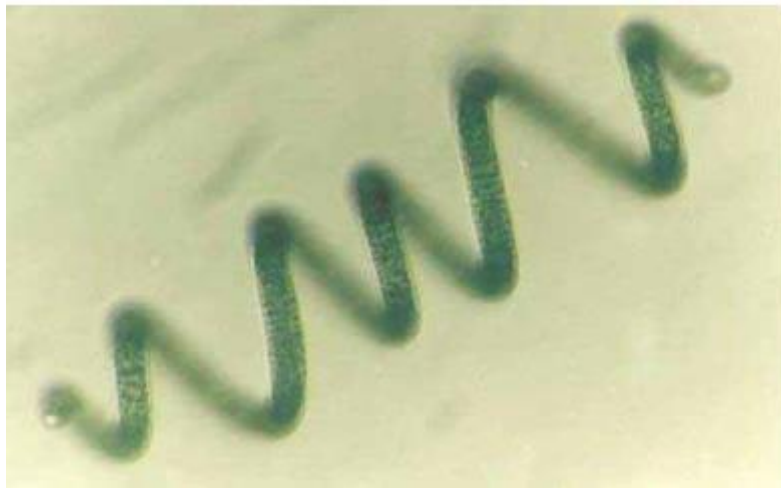


Figure 01 : La spiruline (Jourdan, 2006).

2. Appellation

Spiruline, *Spirulina* ou *Arthrospira*. Il faut retenir que le terme ‘Spiruline’ correspond au nom commercial d’une cyanobactérie appartenant toujours au genre *Arthrospira*. ‘*Spirulina*’ est le nom commercial anglais de la même cyanobactérie mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné d’*Arthrospira*, et surtout non comestible. « *Arthrospira* » étant le nom scientifique (genre) d’un groupe de cyanobactéries auquel appartient notre spiruline alimentaire (Fox, 1999).

La spiruline, avait différentes appellations dont on peut citer :

- La portion magique : Mentinée par Christophe Colomb ;
- Le Dihé : par les Kanembous, tribu du Tchad ;
- Le Tecuitlatl : par les Aztèques.

Tableau 01 : Les diverses appellations de la spiruline (Fox, 1999).

Spiruline®	Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre <i>Arthrospira</i> .
Spirulina®	Nom commercial anglais de la même cyanobactérie Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des <i>Arthrospira</i> .
Spirulina	Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de l'alimentation humaine, et aucune n'est commercialisée à cette fin.
Arthrospira	Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactéries auxquelles appartient notre spiruline alimentaire

3. Historique :

La spiruline, si elle est l'une des premières formes de vie terrestre, n'en a pas moins suscité que tardivement l'intérêt des scientifiques :

- En 1492, Christophe Colomb la découvrit au Mexique, sous forme de petites galettes vertes séchées et le note dans son carnet de bord.
- Cortès, qui en ses mémoires décrit vers 1521 la façon dont les aztèques la récoltaient et consommaient.
- Elle fut redécouverte, au Tchad, vers 1930 par un pharmacien français des troupes coloniales puis en 194 par le botaniste français Dangeard (Farrar, 1966).
- En 1959, Brandilly, anthropologue et cinéaste, publie un article sur la spiruline : « Depuis des lustres, une tribu africaine du Tchad (les *Kanembous*) exploite la nourriture de l'an 2000 » (Farrar, 1966).
- La spiruline décrite pour la première fois par Witrock et Nordstedt en 1844.
- Elle resta une simple curiosité avant le 7^{ème} congrès du pétrole en 1967 à Mexico, à l'occasion duquel des chercheurs de l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline (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 Collegen* (Fox, 1999).

Ce fut l'origine de sa première exploitation industrielle, en 1976, par la société *Sosa Texecoco* basée au Mexique. Actuellement, le nombre de ces exploitations avoisine la trentaine (Fox, 1999).

En Algérie, aucune allusion à la consommation ou à l'utilisation de la spiruline n'est faite. Son existence dans notre pays, n'a été signalée qu'au cours de ces vingt dernières années. De modestes initiatives ont été entreprises au lacs d'El Goléa : à Tamanrasset et plus récemment, en 2009 à Mostaganem (Lounici, 2010).

Tableau 02 : Résumé de plusieurs descriptions d'*Arthrospira platensis* (Fox, 1999).

Date	Auteur et lieu	Longueur des cellules μ	Diamètre des cellules μ	Diamètre des spires μ	Distance entre spires μ
1844	Wittrock & Nordstedt, Montevideo, Uruguay	2-6	6-8	26-36	43-57
1893	Maurice Gaumont citant Wittrock & Nordstedt	2-6	6-8	26-36	43-57
1931	Florence Rich, Lacs, Elmenteia, Cratère & Nakuru, Kenya	3-10	6-11	36-60	15-45
1967	Léonard J. & Compère P. Kanem, Tchad	5	6-9	25-45	35-50
1980	Fox R.D, Lac Orovilca, Pérou	2,5*	7,8*	36*	95*
1984	Fox R.D, Lac Lonar, Inde, de pargaonkar S.	4,5*	12*	99*	55*
1990	Fox R.D, Lac Cratère, Mexique, de Durand-Chastel H.	3,2*	12,45*	52,3*	52*
1993	Fox R.D, Paracas, Pérou, de Planchon G. & Fuentes R.	2,4*	9,5*	33*	43*
1994	Fox R.D, Camargue, de Plancon G. & Fuentes R.	2,3*	11,6*	44*	109*
1994	Fox R.D, Toliara, Madagascar, de Nguyen Kim Ngam	3,8*	7,2*	21,2*	32,5*
1994	Fox R.D, Olive Mill, Californie, de Knutsen G., Bergen Norvège	2,6*	6,1*	32*	65*
Moyennes		3,7	8,6*	44	59,7

II. Biologie de la spiruline :

1. Caractéristiques structurales :

La spiruline est une micro-algue uni ou multicellulaire et filamentaire. C'est une bactérie grâce à sa structure procaryote qui possède une membrane pluristratifiée de 4 couches. Son nom dérivé de la configuration physique spiralée et hélicoïdale de ses filaments, en latin *spira* signifie enroulement (Manet, 2016). Ce filament est appelé trichome, il est d'une longueur moyenne d'environ 250 μ m lorsqu'il a 7 spires et son diamètre est d'environ 10 à 12 μ m. Mais les paramètres de l'hélice (épaisseur, longueur) ne sont pas toujours les mêmes selon les chercheurs qui étudient la spiruline (Cruchot, 2008);(Richmond & Becker, 1986). Les facteurs environnementaux tels la température, les conditions physiques et chimiques, auraient cependant une influence sur la géométrie et l'orientation de l'hélice (Mühling et al., 2003) ; (Jeeji Bai, 1985).

Cependant les spirulines présentes différentes formes. On trouve des formes spiralées classiques(A), ondulées(B) et parfois droites(C). Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habita (Fox, 1999).

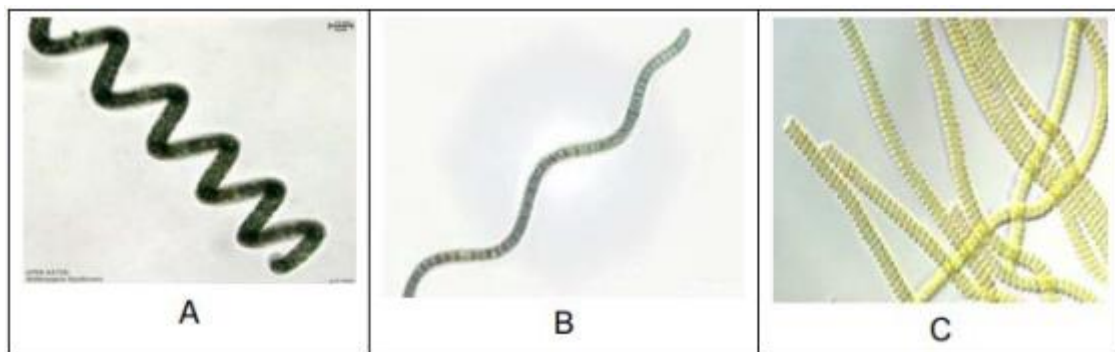


Figure 02 : les différentes formes de spiruline (Toxicologie et al.,2000.).

Une fois le genre bien établi, il faut encore ne pas se tromper d'espèce. Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulina platensis*, originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* originaire d'Amérique centrale.

- L'espèce mexicaine *Spirulina (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 se rétrécissent pas au niveau des articulations (Fox, 1999).

- L'espèce du Tchad *Spirulina (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).

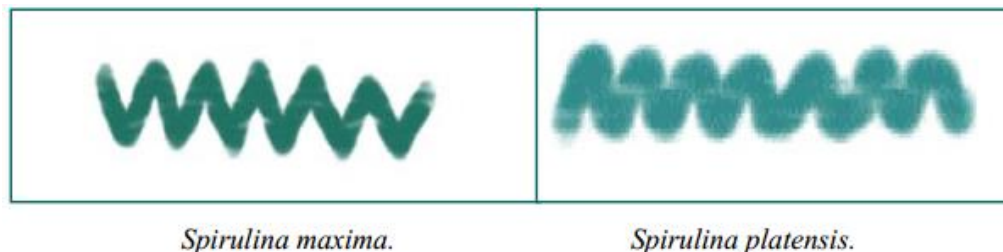


Figure 03 : Filaments des deux espèces de spiruline observés au microscope optique (Elyah, 2003).

2. Classification :

La spiruline était à l'origine considérée comme une algue. Cependant, en 1960 une claire distinction entre procaryote et eucaryote a été définie, basée sur la différence d'organisation cellulaire : les procaryotes regroupent les organismes dépourvus de compartiment cellulaire tandis que les eucaryotes regroupent ceux qui possèdent des organelles c'est à dire des nucléoles et des mitochondries (Durand-Chastel 1993). En 1962, Stanier et al (Stanier 1974 ; Stanier et Van Niel, 1962) constataient que cette algue bleu-verte était dépourvue de compartiments cellulaires, et donc faisait partie des procaryotes, ils proposaient de désigner ce microorganisme de «Cyanobactérie». Cette nouvelle désignation est finalement acceptée et figure pour la première fois au « Bergey's Manual of Determinative Bacteriology » en 1974 (Stanier 1974) in (Doumenge et al., 1993).

Tableau 03 : Classification Zoologique du *spirulina platensis* (Wheeler Et al., 2007 ; Fox, 1999; Boone Et al., 2001 ; Benson Et al., 2006).

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

3. Croissance :

A la maturité, le trichome forme des cellules spéciales appelées nécriides au niveau desquelles le trichome se brise en plusieurs morceaux. Ces morceaux donnent naissance à des cellules en courtes chaînes (2 à 4 cellules) appelées hormogonies. Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale (Charpy Et al., 2008). Sa vitesse de multiplication est particulièrement rapide dès que la température dépasse 30°C à l'ombre ; lorsque ces conditions sont réunies et que le milieu est favorable, le temps de génération est très court (7heures) (Zarrouk, 1966).

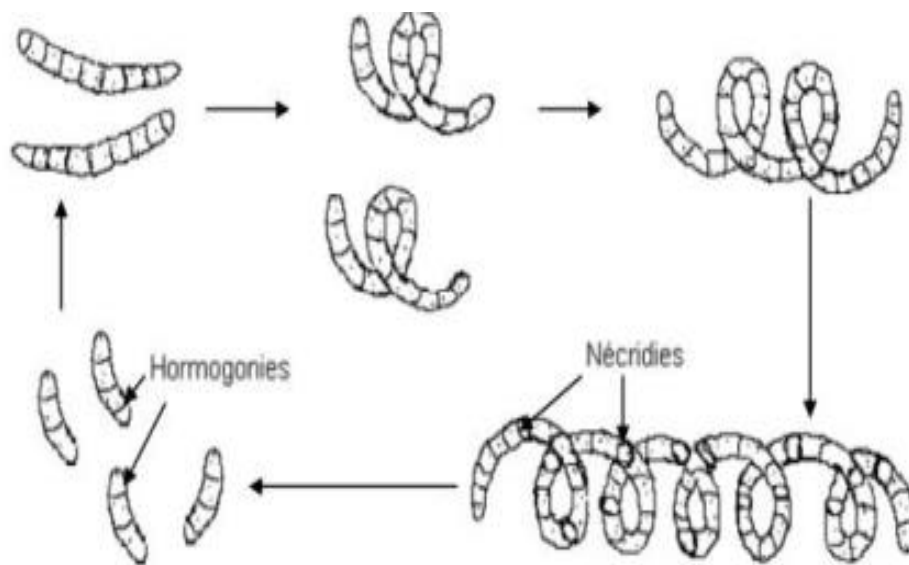


Figure 04 : Cycle biologique de spiruline (Lounici, 2010).

4. Ecologie :

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines, contenant du carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou du bicarbonate de sodium (NaHCO_3), et riche en nutriment azotés et phosphorés (Fox, 1999). Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (Castenholz Et al., 2001).

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition dans des lacs de la ceinture intertropicale du globe terrestre. Ces lacs sont situés de approximativement entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud ; ils sont peu profonds et agités par des vents légers. D'autres endroits sont possible, notamment partout où vivent le flamant nain (Afrique et Asie) et le flamant de james, *phoenicoparrus jamesi* (Amérique du sud). Cet organisme est dit ubiquiste (Fox, 1999; Doumenge Et al., 1993).

5. Reproduction :

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours. Sa reproduction est végétative (asexuée) et s'effectue par scission simple, fission binaire ou multiple, par bourgeonnement ou fragmentation au hasard.

Les 3 étapes fondamentales de son cycle de vie sont :

- la fragmentation des trichomes,
- puis les cellules s'élargissent, le trichome mature,
- et se divise en filaments par fission binaire, ces filaments prenant une forme hélicoïdale (Lounici, 2010).

6. Déplacement :

La spiruline est capable d'effectuer deux types de déplacement : la motilité et la flottabilité. Le trichome exerce un mouvement oscillatoire, de forme hélicoïdale, en rotation autour du grand axe. La spiruline peut donc évoluer dans l'eau en se vissant (5 μ m/secondes) (Carr & Whitton, 1982) ; (Burkholder, 1934).

La microscopie électronique a permis de comprendre la motilité des filaments : cette technique met en évidence l'existence de *fimbriae* de 2 à 10 nm de diamètre et 1 à 2 μ m de longueur, ces filaments tubulaires dépassent de minuscules pores situés sur le pourtour des extrémités de la cellule (Halfen & Castenholz, 1971); (Gugliemi Et al., 1993). Les *fimbriae* sont aplatis contre la paroi cellulaire externe et pointent dans la même direction. Comme des rameurs sur une galère, ils propulsent le filament d'arrière en avant (Doumenge Et al., 1993); (Zarrouk, 1966)

La spiruline flotte, elle peut fabriquer des vésicules de gaz d'environ 70 nm de long et 10 nm de diamètre, faites d'une chaîne de protéines tissées. Ces vésicules ressemblent à des tubes creux cylindriques comportant des capuchons coniques. Elles se trouvent habituellement près des parois terminales des cellules et sont empilées les une sur les autres. Elles se forment et se remplissent de gaz lorsque la lumière du soleil apparaît : tels des ballons dirigeables, elles permettent au filament de spiruline de remonter en surface pour recevoir la lumière et ainsi commencer la photosynthèse (Lounici, 2010).

Ces deux méthodes de locomotion permettent à la spiruline de se protéger elle-même contre une overdose mortelle de soleil (Lounici, 2010).

III. Intérêts et utilisation de la spiruline :

La spiruline est utilisée dans plusieurs domaines, elle est d'un grand intérêt pour l'humain en tant qu'aliment ou cosmétique, mais également pour les animaux. Chez l'humain, elle est surtout utilisée pour sa grande richesse en protéines afin de lutter contre la dénutrition et elle est utilisée comme complément alimentaire afin d'augmenter les défenses antioxydantes de l'organisme et de lutter contre les carences en vitamines et minéraux. Des effets hypoglycémiant, hypolipémiant, antiviral et immunostimulant lui sont également accordés (Ponce-Canchihuamán Et al., 2010) ; (Jarouliya Et al., 2012 ; Hoseini Et al., 2013).

En industrie, la spiruline est utilisée comme colorant naturel à travers la phycocyanine étant le seul colorant bleu d'origine naturelle, elle est incorporée dans plusieurs préparations alimentaires (pains, pâtes, boissons, produits laitiers, etc.) et cosmétiques. Chez l'animal, la spiruline est utilisée comme complément pour favoriser la croissance et la fertilité des animaux ainsi que pour renforcer leur pigmentation afin de les rendre plus attrayants pour le consommateur (plumage des oiseaux, couleurs des poissons d'aquarium, couleur des crevettes, etc.) (CHENTIR,2018).

Chapitre II

La biochimie de spiruline

I-compositions biochimiques de spiruline

L'existence de différentes souches de spirulines, l'origine géographique, les conditions de production (les éléments chimiques entrant dans la composition du milieu de culture, les techniques de séchage, de broyage, de récolte), le taux d'ensoleillement, sont autant d'éléments qui influent la composition de la spiruline. Les différentes spirulines proposées sur le marché mondial n'étant de ce fait pas strictement équivalentes en termes de composition biochimique, notre travail se basera sur des valeurs moyennes.

En poids sec, la spiruline contient en moyenne 50 à 70% de protéines ; 15 à 25% de glucides ; 11% de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux, de la chlorophylle et des phycobiliprotéines (Falquet & Hurni, 1986; Charpy Et al., 2008).

1. Composition en protéines

Les protéines de l'organisme se renouvellent en permanence et représentent environ 20% de la masse corporelle. Essentielles à l'organisme, elles interviennent dans de nombreuses fonctions.

Le pourcentage en protéines comprise entre 50 et 70 % de son poids sec, la spiruline est quantitativement plus riche que la plupart des aliments. Elle possède des niveaux protéiques similaires à ceux de la viande et du soja (Ahounou, 2018).

Les protéines de la spiruline sont complètes, puisqu'on y retrouve tous les acides aminés essentiels (valine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane), qui représentent 47% du poids total des protéines.

Plusieurs études ont montré que la spiruline contient des acides aminés essentiels dans les proportions recommandées par la FAO (Food and Agriculture Organization ou Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture) , pouvant être comparées à des normes de protéines telles que la viande , les œufs ou le lait, et avec une qualité supérieure à celles des protéines végétales (Ahounou, 2018).

Les acides aminés soufrés, la méthionine et la cystéine, ainsi que la lysine, sont certes plus faiblement représentés, (Falquet & Hurni, 1986); (Charpy Et al., 2008). mais il est important de noter la présence de méthionine, absente chez la plupart des autres « micro-algues » (Ahounou, 2018).

De plus, l'absence de paroi confère à la spiruline une bonne digestibilité, entre 75 et 90%. Ainsi elle ne nécessite ni cuissons ni traitements spéciaux pour rendre ces protéines disponibles (Ahounou, 2018).

La composition en acide aminés de la spiruline soit optimale, pour devenir une source alimentaire de premier choix, il est nécessaire que ces protéines soient assimilables par l'organisme. Cette caractéristique est déterminée par le calcul du coefficient d'efficacité protéique (PER : Protein Efficiency Ratio) (Ahounou, 2018).

$$\text{PER} = \frac{\text{gain de poids de l'animal ou de l'individu}}{\text{poids de protéines ingérées}}$$

Tableau 04 : Comparaison des valeurs protéiques de la spiruline et de la caséine résumées dans le tableau ci-dessous (Ahounou, 2018).

Valeurs protéiques de la spiruline de la spiruline comparées à la caséine			
Caractéristiques	Spiruline	Protéine de référence (Caséine)	Référence en %
Valeur biologique	75	87	86.20
NPU	62	83	74.09
Digestibilité	85	95	89.47
PER	1.9	2.5	76.00

2. Composition en lipides

Les lipides représentent généralement de 5 à 10 % du poids sec de la Spiruline. La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés (AGPI). On retrouve 83% de fraction saponifiable et 17% de fraction insaponifiable dans les lipides (Charpy Et al., 2008).

2.1. Fraction saponifiable « Acides gras »

La fraction saponifiable, représentant 4,9 à 5,7% de la matière sèche de la Spiruline, Elle varie essentiellement suivant le milieu de culture (Colla Et al., 2007).

Tableau 05 : Tableau représentant le pourcentage des principaux acides gras de la spiruline modifiée, (Falquet & Hurni, 1986).

Acids gras	% des Acides gras totaux
Palmitique (16 :0)	25-60
Stéarique (18 :0)	0.5-2
Palmitoéique (16 :1)	0.5-10
Oléique (18 :1)	5-16
Linoléique (18 :2)	10-30
AGL (18 :3)	8-40

} oméga 6

La spiruline est considérée comme une très bonne source d'acide gamma-linolénique (AGL), d'acide linoléique, et d'acide oléique. Malgré les différents taux d'AGL obtenus suivant les échantillons, il est important de souligner sa présence, du fait de sa rareté dans les aliments courants elle est souvent retrouvée dans des huiles onéreuses d'onagre ou de pépins de cassis. La spiruline est l'une des sources contenant la plus grande quantité d'AGL représentant environs 20% des acides gras totaux. Cet acide gras est intéressant comme précurseur des prostaglandines, des leucotriènes, et des thromboxanes, médiateurs des réactions inflammatoires et immunitaires (Ahounou, 2018).

L'absence d'acide gras oméga 3 qui pourrait être compensé par l'apport de l'huile de noix, de colza, des poissons riches en oméga 3 permettant de pallier à un éventuel déséquilibre du ratio $\Omega 6/\Omega 3$ (Ahounou, 2018).

2.2 La fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable est composée essentiellement de stérols, de terpènes, d'hydrocarbures saturés (paraffines) et de pigments. Cette fraction représente 1,1% à 1,3% de la matière sèche de la Spiruline et environ 13% de la fraction lipidique totale. Elle est constituée de stérols, de terpènes, de paraffines, et de pigments. La quantité de stérols (dont le cholestérol) retrouvée dans la spiruline est très faible, variant entre 0 à 0,015% de son poids sec. Les alcools terpéniques représentent 5 à 10% de l'insaponifiable, (Falquet & Hurni, 1986); (Charpy Et al., 2008).

Enfin, les hydrocarbures saturés (paraffines) représentent entre 0,1 et 0,3% de la spiruline sèche, avec majoritairement du n-heptadécane pouvant dans certaines conditions être toxique (notons qu'on en retrouve dans certaines levures alimentaires à hauteur de 0,1 à 0,5%) (Charpy Et al., 2008).

3. Glucides.

Premières sources énergétiques de l'organisme, les glucides sont indispensables au fonctionnement du cerveau et des muscles. Ils exercent aussi une fonction dans la constitution des tissus fondamentaux de l'organisme.

Ils constituent 15 à 25% du poids sec de la spiruline. Les glucosamines et l'acide muramique associés à des peptides, constituent la paroi cellulaire des spirulines. Cette paroi s'apparente à celles des bactéries gram négatif. Bien que non digestibles, ces parois sont fragiles et rendent le contenu cellulaire très accessible aux enzymes de digestion (Falquet & Hurni, 1986).

L'essentiel des glucides assimilables sont des polymères : glucosanes aminés rhamnosanes aminés et du glycogène. Tandis que les glucides simples comme le glucose, le fructose, et le saccharose, ainsi que les polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol, ne sont présents qu'en très faibles quantités (Ahounou, 2018).

Les composés glucidiques importants de par leurs propriétés sont :

3.1. Glucides simples et polyols à petites molécules

Les sucres simples comme le glucose, le fructose et le saccharose existent à l'état de traces. Le glycogène représente 0,5%, le glycérol et des polyalcools comme le mannitol et le sorbitol sont présents en petite quantité (Charpy Et al., 2008).

3.2. Glucosanes aminés et Rhamnosanes aminés

L'essentiel des glucides assimilables est constitué par ces polymères. Ils constituent l'ensemble des mucilages extractibles par l'eau, soit 11 à 12% du poids sec. Le glucosane et le rhamnosane constituent respectivement 1,9% et 9,7% du poids sec de la Spiruline. La glucosamine représente une part non négligeable des polysaccharides. Par contre, le galactose et ses dérivés sont absents de cet équipement glucidique (Quillet, 1975).

3.3. Cyclitols

Présents sous forme phosphorylée, les cyclitols correspondent à 2-3 % de la matière sèche de la Spiruline. Ils se composent essentiellement de meso-inositol phosphate qui constitue une source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350-850mg de matière sèche) Cette teneur en inositol serait selon (Falquet & Hurni, 1986). environ huit fois celle de la viande et plusieurs centaines de fois celle des végétaux les plus riches en cette molécule. Les cyclitols phosphatés sont aussi des capteurs de calcium qui peuvent avoir un effet décalcifiant si l'apport en calcium devenait insuffisant (Quillet, 1975).

3.4. Glucides des parois cellulaires

Ces glucides se retrouvent sous la forme d'acide sialique à de très faible teneur (0,5%), de glucanes aminés et de rhamnosane aminés, ainsi que d'acide muramique et glucosamine sous forme de chlorhydrate, tous deux associés à des peptides et à un pourcentage totalisant 2% (Charpy Et al., 2008).

La paroi de la Spiruline présente une teneur en glycogène estimée à environ 0,5% de son poids sec (Fox, 1999;(Quillet, 1975). et une teneur en cellulose très faible, soit 0,5% de son poids frais (Jacquet 1974). Elle serait donc facilement assimilable même par les personnes ayant une absorption intestinale faible.

3.5. Polysaccharides sulfatés

La Spiruline est constituée aussi de polysaccharides sulfatés spécifiques comme le spirulane-calcique (Ca-Sp) ou le spirulane-sodique (Na-Sp) 8 (Lee Et al., 1998).

3.6. Immulina

Un nouveau polysaccharide d'un poids moléculaire élevé a été isolé chez *Spirulina platensis*. Cet activateur potentiel des monocytes et macrophages humains a été nommé « Immulina ». Ce polysaccharide, structurellement complexe et fortement hydrosoluble, représente entre 0,5% et 2% du poids sec de cette cyanophycée. ont isolé « Immulina » de *Spirulina platensis* et observent in vitro une activation des monocytes 100 à 1000 fois plus élevée que celle produite par des préparations de polysaccharides utilisés habituellement en clinique pour traiter les cancéreux (Charpy Et al., 2008).

4. Composition en acides nucléiques

La Spiruline renferme 4,2 à 6% d'acides nucléiques totaux (30% ADN et 70% ARN) dans sa matière sèche. La richesse en acides nucléiques d'un aliment peut induire à terme une production importante d'acide urique par dégradation biochimique des purines. L'ARN en produit deux fois plus que l'ADN. L'excès de cet acide peut entraîner à la longue des calculs rénaux et des crises de gouttes. Il est admis que la dose maximale d'acides nucléiques tolérables à long terme est de 4g/j pour un adulte. Il faudrait consommer 80 g de Spiruline sèche pour atteindre cette dose (la quantité de Spiruline usuellement consommée ne dépasse pas 10 g de matière sèche) (Charpy Et al, 2008).

5. Vitamines

Bien que n'ayant pas de valeur énergétique, les vitamines sont essentielles à l'organisme. Elles interviennent dans de nombreuses fonctions biologiques : croissance et développement du squelette, transformation et utilisation des macronutriments, vision, coagulation du sang, systèmes musculaires, nerveux, immunitaires... Le corps humain étant incapable de les fabriquer (hormis la vitamine K et la D), leur apport par une alimentation équilibrée et diversifiée est primordial pour un bon fonctionnement de l'organisme et pour la prévention de nombreuses pathologies. Malgré les faibles quantités requises pour les apports, (de quelques microgrammes à quelques milligrammes par jour), un apport insuffisant en vitamines entraîne des déficits voire des carences associées à des troubles cliniques à type de fatigue, de troubles de la mémoire ou des pathologies comme le scorbut, le béribéri, la cataracte ou encore des cancers (Ahounou, 2018).

5.1. Vitamines liposolubles

Les vitamines A, D, E et K sont stockées dans les tissus adipeux et le foie. Elles présentent un risque de surdosage et donc de toxicité de par la capacité de l'organisme à les accumuler. Ces vitamines liposolubles sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Teneur moyenne et principales fonctions des vitamines liposolubles de la spiruline (Ahounou, 2018).

Vitamines liposolubles	Teneur moyenne dans 10g de spiruline	Principales fonctions
A (provitamine A)	15 à 24 mg (1000% des AJR)	Croissance, Vision, Antioxydant
D	1200 UI	Minéralisation des os absorption intestinale du calcium et stabilité de son taux
E	1 UI (3% des AJR) 0.5 à 1.9 mg	Antioxydant : membrane et lipoprotéine
K	0.2 mg (300% des AJR)	Coagulation sanguine fixation du calcium

5.2. Vitamines hydrosolubles

Ce sont les 8 vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12), elles présentent un moindre risque de surdosage en raison de leur élimination rénale (Ahounou, 2018).

Les vitamines hydrosolubles contenues dans la spiruline sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Teneur moyenne et principales fonctions des vitamines hydrosolubles de la spiruline (Ahounou, 2018).

Vitamines Hydrosolubles	Teneur moyenne dans 10g de spiruline	Principales fonctions
B 1 (thiamine)	0.35 mg (30% des AJR)	-Transmission influx nerveux -Métabolisme des glucides
B 2 (riboflavine)	0.35 mg (21% des AJR)	-Production d'énergie par le métabolisme des glucides et lipides. -Croissance des tissus (peau et muqueuses) -Vision
B 3 (niacine, PP)	1.46 mg (9% des AJR)	-Production d'énergie -Transmission de l'influx nerveux
B 5 (panthoténate)	0.5-10mg (10% des AJR)	-Croissance des tissus (peau, cheveux, muqueuses) -Favorise la production d'énergie
B 6 (pyridoxine)	0.08 mg (5% des AJR)	-Synthèse des neurotransmetteurs -Métabolisme des protéines
B 8 (biotine)	0.5 µg (0.5% des AJR)	-Métabolisme : protéines, lipides, glucides -Synthèse des vitamines B9 et B12
B 9 (acide folique)	0.01 mg (2.5 % des AJR)	-Renouvellement de toutes les cellules -Synthèse des neuromédiateurs -GR et oxygénation cellulaire
B12 (cobalamine) *	0.015-0.032 (1000% des AJR)	-Formation des GR (anti anémique) -Renouvellement cellulaire

6. Minéraux et oligoéléments

Les minéraux et les oligoéléments sont des composés inorganiques nécessaires à l'organisme. Une différence quantitative réside néanmoins entre les deux groupes. En effet, les minéraux se trouvent en quantité importante dans l'organisme tandis que les oligoéléments n'y sont présents qu'à l'état de traces (Ahounou, 2018).

Les éléments minéraux représentent environ 4% du poids corporel, mais interviennent dans de nombreuses fonctions : minéralisation, systèmes enzymatiques, hormonaux, musculaires, nerveux, immunitaires, ou contrôle de l'équilibre en eau. Les apports en

minéraux se font via une alimentation équilibrée et diversifiée permettant de compenser les pertes. Une vingtaine présente un caractère essentiel chez l'homme. La composition en minéraux de la spiruline varie suivant le milieu de culture (Ahounou, 2018).

Les minéraux et les oligoéléments présents dans la spiruline sont regroupés dans le tableau ci-dessous

Tableau 08 : Teneur moyenne et principales fonctions des minéraux et des oligoéléments de la spiruline (Ahounou, 2018).

Minéraux et Oligoéléments	Teneur moyenne dans 10g de Spiruline	Principales fonctions
Calcium	130 mg (10% des AJR)	-Édification et renouvellement du squelette -Rythme cardiaque, système nerveux
Phosphore	67 mg (8 % des AJR)	-Masse minérale du squelette osseux -Réactions biochimiques de l'organisme
Fer	7-18 mg (50 à 100% des AJR)	-Fabrication et fonctionnement de l'hémoglobine -Constitution de myoglobine
Zinc	0.4 mg (4% des AJR)	-Activation de plus de 200 enzymes
Magnésium	25-50 mg (9 à 25% des AJR)	- Masse minérale du squelette osseux -Métabolisme glucidique et lipidique (muscle, cœur, axe nerveux)
Potassium	100-200 mg (5-10% des AJR)	-perméabilité des membranes - régulation du rythme cardiaque
Sodium	0.09 mg	-Régulation pression osmotique -Maintien de l'équilibre hydro-électrolytique et de la masse hydrique
Sélénium	0.1-2.55 mg (20-100% des AJR)	-Cofacteur des enzymes anti oxydantes -Stimulant de l'immunité
Cuivre	0.1mg (5% des AJR)	-Cofacteur de nombreuses enzymes -Anti-inflammatoire, antioxydant
Manganèse	0.4 mg (12% des AJR)	-Formations des os et des enzymes -Métabolisme protéines, lipides, glucides -Stabilise taux de glucose sanguin
Chrome	0.03-0.25 mg (16% des AJR)	-Métabolisme glucides, lipides, acides nucléiques, cholestérol

La spiruline contient une importante quantité de fer (580-1800 mg/kg). Cette différence s'explique par la possibilité d'enrichissement du milieu de culture en fer. Elle surpasse largement les céréales complètes considérées comme l'une des meilleures sources végétales de fer. Les sources végétales de fer ont une absorption limitée liée à la présence de phytates et d'oxalates qui empêchent la métabolisation du fer. Le fer contenu dans la spiruline quant à lui possède une biodisponibilité élevée, son absorption et le taux de ferritine après digestion étant plus importante que celui de la viande (Falquet & Hurni, 1986).

Le zinc est considéré comme un micronutriment majeur dans la lutte contre la malnutrition. Sans supplémentation du milieu de culture, la quantité de zinc contenue dans la spiruline est négligeable (21 à 40 µg). La spiruline ne constitue pas une bonne source de zinc (Charpy Et al., 2008).

La spiruline constitue naturellement une bonne source de magnésium de par sa teneur en chlorophylle et elle possède une bonne biodisponibilité chez l'homme (Falquet & Hurni, 1986).

Le calcium et le phosphore, sont présents en quantités comparables à celles trouvées dans le lait. Leurs quantités étant équilibrées, ils permettent un maintien de l'état osseux en réduisant le risque de décalcification (Ahounou, 2018).

7. Pigments

La teneur en pigments de la spiruline varie suivant les souches et le milieu de culture. La spiruline contient de nombreux pigments qui lui permettent de capter différents spectres solaires et d'en stocker l'énergie. Ils sont à l'origine des nombreuses propriétés attribuées à la spiruline (Ahounou, 2018).

Les pigments présents dans la spiruline sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 09 : Teneur moyenne et principales fonctions des pigments de la spiruline (Ahounou, 2018).

Pigments	Teneur moyenne dans 10g de spiruline	Principales fonctions
Caroténoïdes : -Lutéine -Zéaxanthine -β-carotène	0,2 mg 11 mg 15à 24 mg (1000% des AJR)	-Vision - Vision -Croissance, Vision, Antioxydant
Chlorophylle	60 mg	-Chélateur des métaux lourds -Protecteur digestif
Phycocyanine	100-160 mg	-Antioxydant, anti-inflammatoire -Immunostimulant, anti tumoral

7.1. Caroténoïdes (pigments jaune-orange)

Le β carotène (pro vitamine A) est un précurseur de la vitamine A. Elle représente 40 à 80% des caroténoïdes de la spiruline. Le reste est composé de cryptoxanthine, de xanthophylle, d'échinénone, de zéaxanthine et de lutéine. Les caroténoïdes étant très sensibles à l'oxydation, il est important de tenir compte des procédés de séchage (Falquet & Hurni, 1986).

La consommation de 5g par jour de spiruline apporte 7 à 8,5 mg de β -carotène alors que la limite d'apport quotidienne de celle-ci est estimée à 7 mg/j (Falquet & Hurni, 1986).

7.2. Chlorophylle (pigment vert)

Il s'agit plus précisément de la chlorophylle a , la seule chlorophylle présente chez les cyanobactéries. C'est une molécule de couleur verte commune aux plantes, capable de capter l'énergie lumineuse et intervenant dans les premières étapes de la photosynthèse. Le taux de chlorophylle contenu dans la spiruline est de 1%. Le rapport phycobiliprotéines/chlorophylle varie de 2,5 à 4,5 en fonction de la salinité du milieu et des conditions de culture (Ahounou, 2018).

De plus la chlorophylle s'associe à un cofacteur, la porphyrine (composant également présent dans la spiruline), pour chélater les métaux lourds (mercure, plomb, arsenic, ou nickel) et les éliminer de l'organisme (Ahounou, 2018).

La chlorophylle aurait des propriétés digestives intéressantes :

- elle augmenterait le péristaltisme intestinal
- elle normaliserait aussi la sécrétion des acides digestifs et diminuerait la sécrétion de pepsine responsable d'ulcères digestifs, et apaiserait l'inflammation (Ahounou, 2018).

7.3. Phycocyanine (pigment bleu)

Pigment bleu spécifique des cyanobactéries, il est responsable avec la chlorophylle de la couleur bleu verte caractéristique de la spiruline (Ahounou, 2018).

Couramment utilisée dans l'industrie alimentaire et cosmétique en tant que colorant naturel en raison de sa couleur bleue, elle est aujourd'hui étudiée pour ses propriétés fonctionnelles et thérapeutiques. On estime que la spiruline est une excellente source de ce pigment puisque sa fraction protéique en contient 200g/kg et représente 20% du poids sec de la spiruline (Ahounou, 2018).

Il s'agit d'une protéine complexe comprenant deux sous-unités α et β qui sont composées de 162 et 172 acides aminés respectivement (Ahounou, 2018).

La publication de Liu et de ses collaborateurs portant sur les effets de la phycocyanine rapporte des effets antioxydant, anti-inflammatoire (par un mécanisme d'action anti COX-2), antitumoral et immunostimulant (Ahounou, 2018).

La structure chimique de la phycocyanine se rapproche de celle de la bilirubine.

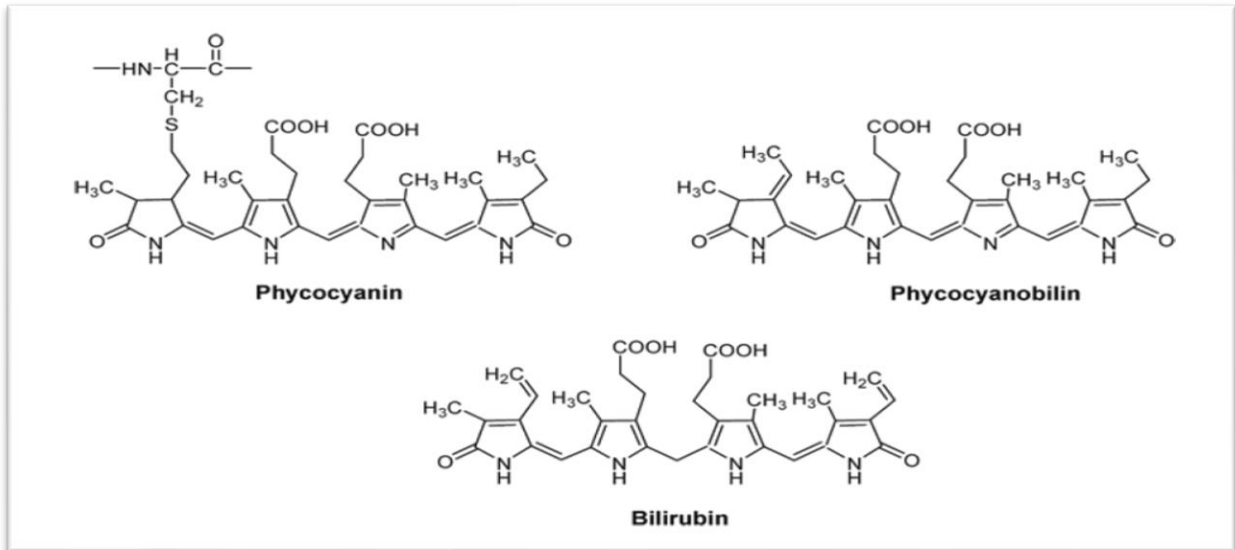


Figure 05 : Structures chimiques de la phycocyanine, de la phycocyanobiline et de la bilirubine (Ahounou, 2018).

8. Enzymes

Les enzymes sont des protéines produites naturellement par l'organisme et intervenant dans la catalyse de nombreuses réactions chimiques. On en retrouve plusieurs dans la spiruline dont la principale est la superoxyde dismutase (SOD). Il s'agit d'une enzyme au fort pouvoir antioxydant intervenant dans la défense de l'organisme contre les radicaux libres (Falquet & Hurni, 1986).

II. culture de spiruline

1. Paramètres influençant la croissance de la spiruline :

La variation des différents facteurs environnementaux, particulièrement l'intensité de la lumière et la température, outre d'autres facteurs, a une grande influence sur la croissance de la spiruline, telle que la composition du milieu de culture impliquant la salinité et la nutrition azotée et phosphorée, le pH et l'agitation, pouvant altérer la vitesse de croissance des organismes photosynthétiques. Sous conditions extrêmes, la croissance tend à s'arrêter s'accompagnant de changements importants observés à plusieurs niveaux : pigmentation, morphologie et métabolisme de la cellule (LAFRI, n.d.).

1.1 Facteurs climatiques : Température et Lumière :

La température et l'intensité de lumière sont des facteurs climatiques importants ayant un effet direct sur l'activité photosynthétique et ainsi sur le taux de croissance de la spiruline. En-dessous de 17 °C, la croissance est pratiquement nulle, mais la spiruline ne meurt pas. La température optimale pour sa croissance est comprise entre 29 et 35 °C, au-dessus de 38 °C, la croissance de la spiruline est inhibée. Tous les organismes photoautotrophes, y compris les bactéries photosynthétiques, les cyanobactéries et les plantes, convertissent l'énergie lumineuse en énergie chimique grâce à la photosynthèse. Il est rapporté que la qualité de la lumière, son intensité et sa durée sont des facteurs importants de la production d'algues (LAFRI, 2018).

Dans un système de culture en bassin extérieur, la lumière directe du soleil n'est pas recommandée, 30% de plein soleil peuvent agir positivement sur la croissance, les 70% restant vont chauffer la culture et ainsi peuvent inhiber la croissance. De ce fait, une lumière provenant d'un tube lumineux est facilement contrôlable et permet de maintenir la température initiale des cultures. La spiruline exige une intensité lumineuse entre 50 et 80 mol photon/m²/s pour assurer sa croissance. La photopériode est également un paramètre important à prendre en compte. Dans un système de culture en bassin extérieur, les cultures sont exposées à un cycle naturel de lumière et d'obscurité, imposant ainsi un seul régime physiologique d'ajustement et d'acclimatation. En revanche, dans un système fermé, si le cycle de lumière est de 24/24h, il faudrait alors déterminer l'intensité de lumière qui augmenterait la concentration cellulaire de la culture, sans qu'il s'y provoque un auto-ombrage, responsable de la diminution du taux de croissance (LAFRI, 2018).

1.2. Milieu de culture :

Différents milieux de culture sont utilisés pour démarrer de nouvelles cultures et ce en fonction de la source d'eau utilisée. L'eau de culture doit être propre (filtrée) pour éviter la croissance d'autres algues. L'eau potable peut être utilisée pour mener une culture, mais il est préférable d'utiliser une eau déionisée qui sera enrichie plus tard selon les besoins de la souche pour éviter tout excès d'un des éléments pouvant conduire à la formation de boues minérales (précipités) responsables du ralentissement des cultures. Le milieu de culture pour la spiruline est constitué de carbonate qui peut être remplacé par le bicarbonate, constituant la source de carbone. Elle peut se développer sur le nitrate ou l'urée seuls, mais l'utilisation des deux à la fois est plus avantageuse, permettant de meilleures productivités. La concentration en potassium dans le milieu de culture doit être

au maximum cinq fois la concentration de sodium. Si des produits chimiques de qualité fertilisante sont utilisés, ils devraient être du type soluble ou cristallisé avec libération immédiate. Ainsi, plusieurs préparations sont possibles. Cependant le milieu Zarrouk est le milieu référence de la spiruline le plus couramment utilisé dont le pH est à une valeur de 9,0 (Zarrouk, 1966).

1.3 L'agitation :

L'agitation de la culture est nécessaire pour homogénéiser et assurer une bonne répartition de l'éclairage parmi tous les filaments de la spiruline. L'agitation a donc un effet direct sur la productivité des cultures surtout à grande échelle. L'agitation est assurée par palette rotative à moyenne vitesse, qui maintient les cellules en suspension. Toutefois, une productivité élevée par le genre *Arthrospira* est obtenue quand les cultures sont aérées par bullage à l'aide de pompes à eau. Cette technique permet de distribuer uniformément la concentration de dioxyde de carbone et supprimer les substances inhibitrices comme l'oxygène. Lorsque l'aération n'est pas adéquate, l'efficacité de l'utilisation de l'énergie et la production de biomasse seront faibles. De même, si le milieu de croissance n'est pas aéré, la cellule flotte à la surface du milieu de culture dû à la présence de vacuoles remplies d'air. Ces cellules subissent une photo- inhibition, résultant en faible croissance et ainsi perte dans la production de biomasse (Fox, 1999)

III-Constituants fonctionnels principaux :

1. La phycocyanine :

1.1. Phycobilisome :

Les cyanobactéries possèdent une large variété de composants colorés incluant les caroténoïdes, les chlorophylles et les phycobiliprotéines. Les phycobiliprotéines, dont fait partie la phycocyanine, sont des chromoprotéines constitués d'une partie protéique et d'un pigment. Leur agrégation en complexe macromoléculaire forme le phycobilisome. Les phycobilisomes sont attachés en matrices régulières à la surface externe de la membrane du thylacoïde, siège de la photosynthèse. Leur principale fonction est de servir de récepteur des rayons lumineux pour l'appareil photosynthétique de la spiruline et convertir cette énergie lumineuse en énergie électrochimique . Ces macrocomplexes protéiques sont composées d'un cœur sur lequel sont fixées des projections radiaires (ou bras) (Figure 06). Pour la spiruline, le cœur est composé de molécules d'allophycocyanine entourées de molécules de phycocyanine périphériques. La phycocyanine est le constituant principal alors que l'allophycocyanine fonctionne comme le pigment construisant un pont entre les

phycobilisomes et les lamelles photosynthétiques du thylacoïde (Romay Et al., 2003 ; Sguera, 2008).

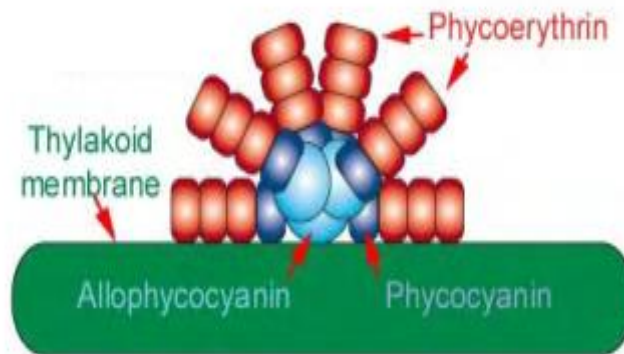


Figure 06: Représentation schématique d'un phycobilisome classique (Sguera, 2008).

1.2. Phycobiliprotéines :

Les phycobiliprotéines contiennent toutes un groupement protéique et plusieurs chromophores de différents types liés à l'apoprotéine par des résidus cystéine via des ponts thioethers (Figure 07).

Il existe trois types d'apoprotéines, classées selon leurs caractéristiques spectrales, correspondant aux phycobiliprotéines nommées phycocyanine ($\lambda_{\max} = 618 \text{ nm}$) allophycocyanine ($\lambda_{\max} = 650 \text{ nm}$) et phycoérythrine ($\lambda_{\max} = 565 \text{ nm}$) (Wang Et al., 2001).

La partie protéique ou apoprotéine est formée par deux sous-unités protéiques α et β de 15 à 20 kDa formant un hétérodimère appelé aussi « monomère ». Les groupes bilins ou phycobilines constituant le chromophore correspondent à des groupements prosthétiques linéaires isomériques de type tétrapyrrole. Ils sont classés selon leur configuration moléculaire qui diffère par la disposition des doubles liaisons et leur confère des propriétés spectroscopiques nettement distinctes visualisée par une absorbance significative dans les UV. Ainsi la phycourobiline de couleur orange absorbe dans le bleu-vert, la phycoérythrobliline de couleur rouge absorbe dans le vert, la phycobilivoline absorbe dans l'orange et la phycocyanobiline de couleur bleue absorbe dans le rouge (Sguera, 2008).

Les classes de phycobiliprotéines se distinguent par l'un de leur chromophore appelé "accepteur terminal d'énergie". Pour les phycoérythrines, c'est toujours une phycoérythrobliline. Pour la phycocyanine, la phycoérythrocyanine et l'allophycocyanine, ce chromophore est toujours une phycocyanobiline (Figure 07).

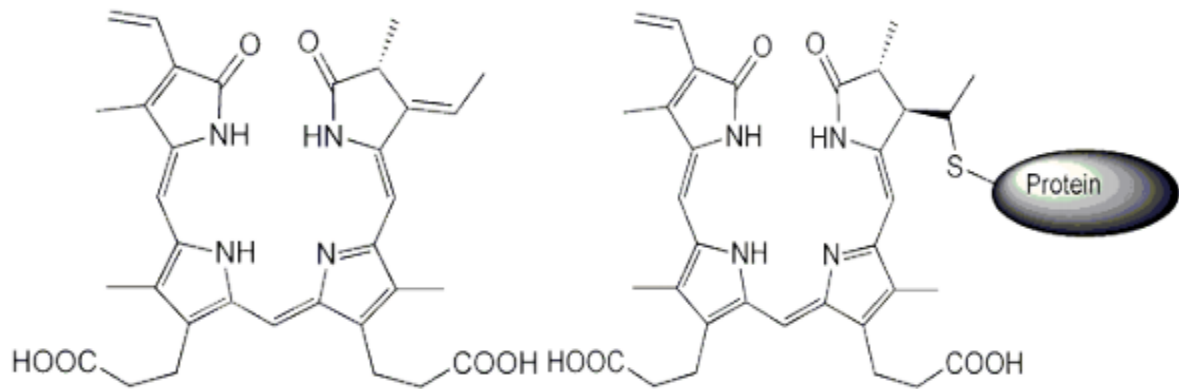


Figure 07 : Molécules de phycocyanobiline (à gauche) et de phycocyanine (à droite)
(Lounici, 2010).

2. Propriétés physico-chimiques de la Phycocyanine :

Les groupements prosthétiques de la phycocyanine représentent 4% de la masse de l'algue, soit 16 chromophores par unité de masse moléculaire (Dalton) sachant que la masse moléculaire du monomère de phycocyanine est de 37468,5 Da (détermination par ionisation par électrospray couplée à une spectrométrie de masse). Ce monomère est composée de deux sousunités α et β de taille respective de 18186,56 et 19281,94 Da, et de trois chromophores de phycocyanobiline attachés à la sous-unité α (α 84) et à la sous-unité β (β 84, β 155). (Bhat & Madyastha, 2000) ;(Romay Et al., 1998)

La phycocyanine peut se retrouver sous forme de mélanges complexes d'agrégats en tant que trimère $(\alpha\beta)_3$, hexamère $(\alpha\beta)_6$ et dodécamère $(\alpha\beta)_{12}$. Selon le pH, la force ionique, la température et la concentration en protéines, la quantité relative de ces agrégats est variable. En général, la structure de la phycocyanine chez *Spirulina platensis* est formée de l'association de deux hexamères qui se font face formant une unité asymétrique (Figure 08). Au total sur cette unité asymétrique, 36 chromophores de phycocyanobiline sont liés par un pont thioéther à la partie protéique (Wang Et al., 2001).

La phycocyanine est le pigment le plus abondant de la spiruline représentant plus de 15% de son poids.

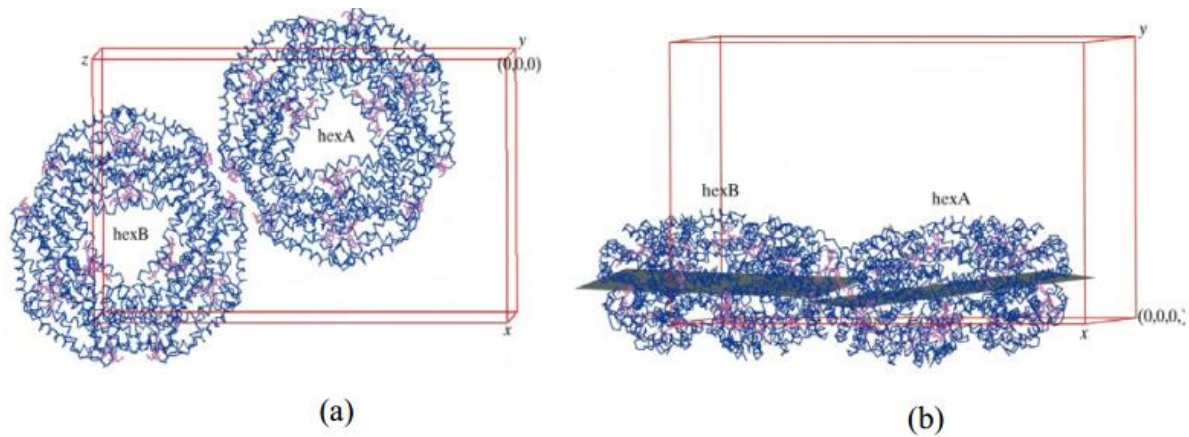


Figure 08 : 2 hexamères de C-phycocyanine dans l'unité asymétrique vue selon l'axe b (a); vue selon l'axe a (b) (Wang Et al., 2001).

Constituant majeur du thylacoïde, l'hexamère de phycocyanine semble être le principal responsable des propriétés qui sont données à la spiruline. Il a donc fallu trouver des méthodes d'extraction pour pouvoir l'étudier de plus près (Sguera, 2008).

IV. La photosynthèse de spiruline

La spiruline est une espèce photoautolithotrophe (grâce à ses pigments chlorophylliens), aérobie. Par conséquent, elle est dotée des photosystèmes I et II. La photosynthèse constitue alors la clé de sa croissance (Fox, 1999).

Pour sa photosynthèse, la spiruline a besoin d'eau, de carbone, et d'éléments nutritifs dont l'azote en particulier. Elle assimile une source de carbone minéral (le CO_2 atmosphérique) et la convertit en énergie biochimiquement utilisable représentée par le glucose. Son point commun avec les autres cyanobactéries est qu'elle ne possède pas le cycle de Krebs complet (Doumenge Et al., 1993) ;(Fox, 1999).

L'énergie lumineuse est captée par des pigments assimilateurs représentés par les chlorophylles. La chlorophylle de la spiruline et des autres bactéries photosynthétiques se situe dans les régions spécialisées de leur membrane cellulaire : les phycobilisomes des thylakoïdes. La photosynthèse est divisée en deux phases : une série de réactions dites "lumineuses" et une série de réactions dites "obscurées" (Lounici, 2010).

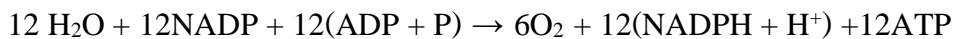
❖ Les réaction lumineuses :

Ces réactions nécessitent la présence de lumière et s'effectuent dans les membranes thylakoïdiennes pour la spiruline (dans les chloroplastes pour les cellules végétales). Cette lumière permet d'apporter l'énergie nécessaire à la réaction photosynthétique. Les

thylakoïdes contiennent des pigments photosynthétiques organisés en deux photosystèmes : les photosystèmes I et II, respectivement notés PS I et PS II. C'est au niveau des membranes communes à deux thylakoïdes que se trouvent ces deux photosystèmes ; ils sont toujours placés à proximité l'un de l'autre (Lounici, 2010).

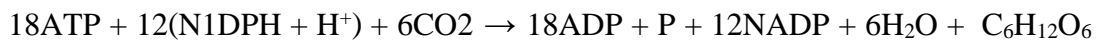
Le PS I possède une plus grande variété de pigments que le PS II et il est riche en chlorophylle de type a P700 : celle-ci absorbe des longueurs d'onde de 430 nm dans le bleu et de 700 nm dans le rouge. La source d'électrons est constituée par les minéraux et les molécules organiques. Le PS II est riche en chlorophylle de type a P680. C'est à son niveau que se produit la photolyse de l'eau, c'est-à-dire qu'il récupère les électrons libérés par les molécules d'eau. La phycocyanine, pigment spécifique aux cyanobactéries, est essentielle au transport de l'énergie vers le PS II (Lounici, 2010).

Au cours de cette phase lumineuse, il y a photolyse de l'eau : les molécules d'oxygène et d'hydrogène se séparent. On assiste également à la synthèse d'ATP (Adénosine triphosphate), molécule dont la consommation libère beaucoup d'énergie, et de NADP (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate) (Lounici, 2010).

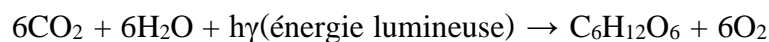


❖ Les réactions obscures :

Elles ont lieu dans le stroma (matrice) du thylakoïde, où l'énergie produite lors de la phase lumineuse y est stockée sous forme d'ATP et de NADP réduit. Cette énergie est utilisée pour la synthèse de molécules organiques, par réduction du dioxyde de carbone. Cette phase est dite obscure car elle correspond à une série de réactions qui ne nécessitent pas de lumière ; ce n'est pas pour autant qu'elles se déroulent la nuit, au contraire. Ces réactions forment le cycle de Calvin. A l'issue de ce cycle, une molécule de glucose est synthétisée .



La formule générale de la photosynthèse peut donc s'écrire de la façon suivante :



Les chlorophylles sont des pigments photosynthétiques et elles peuvent être excitées par les radiations lumineuses. Cette excitation est due à la présence de liaisons conjuguées (et donc d'électrons délocalisés) : l'arrivée d'un photon fait passer un électron délocalisé d'un état fondamental (non excité) à un état excité. La chlorophylle, une fois excitée, retourne à son état fondamental, plus stable thermodynamiquement. Ceci peut se faire de plusieurs manières, en particulier :

- En émettant de la lumière (c'est la fluorescence constatée dans une solution de chlorophylle) ;
- En transférant son énergie à une molécule très proche (c'est la résonance, qui permet aux pigments de l'antenne collectrice des photosystèmes de transférer l'énergie lumineuse de molécule en molécule jusqu'à une chlorophylle piège) ;
- En perdant un électron (c'est la photochimie, laquelle permet à la molécule de chlorophylle piège du photosystème, de réduire un accepteur d'électron et donc de réaliser la chaîne photosynthétique).

La nuit, c'est la respiration qui permet à la spiruline de produire l'énergie nécessaire à son entretien et à sa croissance. Les hydrates de carbone produits pendant le jour, subissent une oxydation qui les convertit en protéines, avec en parallèle une formation de CO₂ (lequel reste dissous dans le milieu de culture) et d' H₂O. Puis, avec le retour de la lumière du jour, le CO₂ participera à un nouveau cycle de photosynthèse . La photosynthèse et la respiration s'équilibrent globalement (Fox, 1999).

V. Différentes méthodes d'extractions de phycocyanine :

1. Extraction par l'eau :

Une suspension de 4 % de spiruline dans l'eau a été préparée à l'obscurité. La solution obtenue, subit une décantation puis une centrifugation (9000 tours/15 mn) à 4°C. On prélève alors le surnageant lequel subit une dilution (facteur 100) avec de l'eau. On a mesuré ensuite la densité optique de la solution à 615 nm, 652 nm, 620 nm et 280 nm. Le calcul du taux (%) en phycocyanine est effectué selon la formule de M'Baye *et al.* (CHENTIR, n.d.).

$$\% \text{ en phycocyanine} : 1,873 \times (\text{Abs}620 - 0,474 \times \text{Abs}652) = f/C$$

Avec:

C : % de la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4%.

f : le facteur de dilution en volume.

2. Extraction par sonification :

On met 10 mg de spiruline en suspension dans 100 ml de tampon phosphaté, la solution est mise sous l'action de l'ultrason E 3010 NA pendant 5 min suivie d'une centrifugation (9000 tours/15min à 4°C). On prélève le surnageant et on ajoute de nouveau au culot 100 ml de tampon et on le remet à l'action de l'ultrason pendant 2 à 3 min, puis centrifugation afin de prélever de nouveau le surnageant et le mélanger avec le premier et

mesurer les absorbances à 615, 652, 620 et 280 nm. Le taux (%) en phycocyanine est calculé selon la formule de Bennett & Bogorad (Bennett & Bogorad, 1973).

$$PC = [Abs_{615} - 0,474 \times Abs_{652}] / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620} / Ab_{280} .

Avec:

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines

3. Extraction par congélation :

On met 100 mg d'algues secs dans 200 ml de tampon. La solution subit des cycles de congélation/décongélation (congélation à -20°C) jusqu'à l'éclatement des cellules. La solution obtenue subit une première centrifugation. Au surnageant, on ajoute 20% de sulfate d'ammonium saturé ((NH₄)₂SO₄), on le laisse reposer pendant 2 heures. Après une deuxième centrifugation, on ajoute au surnageant obtenu 45% de sulfate d'ammonium saturé. Enfin une troisième centrifugation est effectuée directement et le culot est récupéré. Des lectures de spectrophotométrie sont effectuées à des absorbances de 615nm, 620nm, 652nm et 280nm (Bennett & Bogorad, 1973).

$$PC \text{ (mg/ml)} = (Ab_{615} - 0,474 \times Ab_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620} / Ab_{280} .

Avec:

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

4. Extraction par solvant

On verse 4 g de spiruline dans 120 ml de tampon phosphate, au début on l'incube à l'obscurité à 4 °C pendant 12h (pour permettre la lyse des cellules à l'hypotonie de mise), puis centrifuger pour la première fois et récupérer le surnageant bleu. Ensuite, on ajoute 120 ml du tampon phosphate au précipité et incubé 12h à l'obscurité. Après la deuxième centrifugation, les deux surnageants sont mélangés afin de lire l'absorbance à 615, 652, 620 et 280 nm. Le calcul du % en phycocyanine est basé sur de l'équation de Chen *et al* (Bennett & Bogorad, 1973).

$$PC \text{ (mg/ml)} = (Ab_{615} - 0,474 \times Ab_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620} / Ab_{280} .

Avec:

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

5. Extraction par séparation aqueuse à double phase

Une solution de spiruline de 90 % est préparée à l'obscurité. On lui rajoute une solution de 40% de polyéthylène glycol (PEG) : 40 g PEG dans 60 g d'eau, ensuite une solution de sels de phosphates à 20% : mélange de 10 g de K₂HPO₄ et 10 g de KH₂ PO₄ dans 60 g d'eau (on a utilisé, une solution glucosée à 20% et on a comparé le rendement d'extraction) (CHENTIR, 2018).

En se référant à la méthode d'Albertson on a prélevé 1g de 40 % (W/W) de PEG, 1,25 g de 20 % (W/W) de sels phosphates + 0.5 g de spiruline et 2.25 g d'eau. Après mélange, le composé mis à l'obscurité, subit une agitation pendant 20 min à l'aide d'un agitateur, puis une centrifugation, mesure de volumes de phases, de lecture de l'absorbance à 620, 652, 615 et 280 nm. Le calcul du pourcentage en phycocyanine et de sa pureté est basé sur les équations suivantes :

$$PC \text{ (mg/ml)} = (Ab_{615} - 0,474 \times Ab_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620} / Ab_{280} (Bennett & Bogorad, 1973).

Avec :

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines

6. Extraction par macération dans le glycérol

En s'inspirant des travaux de Potcher, on a mélangé 800 g de poudre de spiruline algérienne dans un volume de 60 /40 eau/glycérol. On laisse macérer pendant 15 j à température ambiante à l'obscurité. Une filtration frontale lente est ensuite effectuée, avec un filtre compatible alimentaire (filtre en nylon, finesse de 25 µm). Nous avons suivi le même protocole pour la spiruline tunisienne au sein du Laboratoire de l'Institut des Régions Arides (IRA) (Médenine, Tunisie). Le calcul de pourcentage de la phycocyanine est réalisé selon les formules suivantes :

$$PC \text{ (mg/ml)} = (Ab_{615} - 0,474 \times Ab_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620} / Ab_{280} (Bennett & Bogorad, 1973).

Avec:

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine.

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

Partie II:
Etude expérimentale

Chapitre 1

Matériels et méthodes

I. Matériel

1. Matériel biologique :

Souche de spiruline :

Il a prélevé des échantillons de la souche mère d'*Arthrospira sp* de la région de Tamanrasset obtenue à partir de la culture manuelle de la spiruline Dr HIRI à Guelta du palmier est située à une altitude de 1824m dans des conditions stériles pour éviter toute contamination.

2. Matériel non biologique :

2.1. Appareillage

- Centrifugeuse (Marque SIGMA, modèle 2-6E, Allemagne);
- Agitateurs magnétiques de paillasse, non chauffants (Marque LABTECH, modèle LMS-1003 ; Corée);
- Autoclavage ;
- Etuve (Marque MEMMERT, Allemagne) ;
- pH-mètre (Marque HANNA, modèle 584, Roumanie);
- Spectrophotomètre UV-visible (Marque JENWAY ; modèle 7300) ;
- Balance analytique avec une précision de 0,1mg (Marque RADWAG, modèle AS 220. R2, Pologne) ;
- Hotte (Marque BOF ; Chine) ;

2.2. Petit matériel

Un certain nombre d'accessoires et petits matériels spécifiques est utilisé dans le cadre de cette étude : Micropipettes, pipettes graduées, pipettes jaugées, béchers, erlenmeyers, fioles jaugées, papiers filtre, éprouvettes, entonnoirs, spatules, flacons, boîte en plastique, résistance d'aquarium...etc.

2.3. Matériel chimique

2.3.1 Milieu de culture :

Dans cette étude la spiruline a été cultivée en utilisant deux milieux de cultures l'un le milieu standard de Zarrouk (**tableau 10**) et l'autre et un engrais de complexe NPK : 15, 15,15.

Tableau 10 : les compositions chimiques en gramme par litre d'eau au milieu Zarrouk (Fox, 1999).

Produit chimique	Quantité en g/l d'eau
Hydrogénocarbonate de sodium(NaHCO ₃)	16.8
Phosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄)	0.5
Nitrates de sodium (NaNO ₃)	2.5
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	1.0
Chlorure de sodium (NaCl)	1.0
Sulfate de magnésium (MgSO ₄ , 7H ₂ O)	0.2
Chlorure de calcium(CaCl ₂)	0.04
Sulfate de fer (FeSO ₄ , 7H ₂ O)	0.01
Acide éthylène diamino tétracétique(EDTA)	0.08
Solution A5	1.0
Solution B6	1.0

Tableau 11 : La composition de solution A5 et B6 dans le milieu Zarrouk (Fox, 1999).

Solution A5	
Produit chimique	Quantité en g/l
Acide borique (H ₃ BO ₃)	2.86
Chlorure de manganèse (MnCl ₂ , 4H ₂ O)	1.81
Sulfate de zinc (ZnSO ₄ , 7H ₂ O)	0.222
Sulfate de cuivre (CuSO ₄ , 5H ₂ O)	0.079
Oxyde de molybdène (MoO ₃)	0.015

Solution B6	
Produit chimique	Quantité en g/l
NH ₄ VO ₃ (Vanadate d'ammonium)	0.02296
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ , 24H ₂ O (Alun de chrome)	0.096
NiSO ₄ , 7H ₂ O (Sulfate de nickel)	0.04785
Na ₂ WO ₄ , 2H ₂ O (Tungstate de sodium)	0.01794
Ti ₂ (SO ₄) ₃ (Sulfate de titanium)	0.04
Co(NO ₃) ₂ , 6H ₂ O (Nitrate de cobalt)	0.04398

2.3.2. Les réactifs et solvants :

L'eau distillé, l'acide sulfurique, l'acide borique, l'hexane, phénol(5%), chlorure de calcium.

II. Méthodes

1. Préparation milieu de culture

Les spirulines vivent dans une eau à la fois salée et alcaline. Dans notre étude et pour les deux milieux de culture commencé premièrement par la mesure à l'aide d'un balance les réactifs chimiques de milieu Zarrouk dans le tableau 07 pour 1L et le milieu NPK est principalement composée d'azote, de phosphate, de potassium .



Figure 09 : mesure les réactifs chimiques pour les deux milieux de culture (Photo originale, 2021).

De l'eau distillée et des réactifs chimiques d'analyse doivent être utilisés dans la mesure du possible dans le milieu.

Lors de la réalisation d'une série d'expérience, doit être préparé des solutions mère concentrées pour chacun type utilisés.



Figure 10 : préparation des réactifs en solution mère (photo originale, 2021).

Après, mélangé les solutions mères concentré à l'aide d'un agitateur magnétique et ajouter progressivement de l'eau distillée jusqu'à les dissoudre.

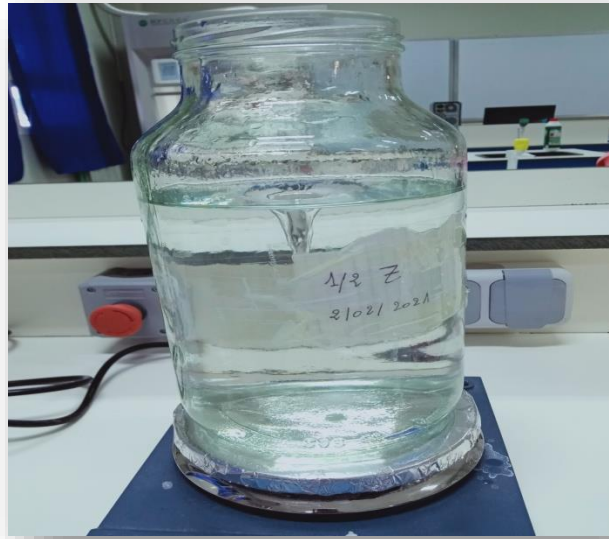


Figure 11 : mélange des réactifs du milieu de culture (photo originelle, 2021).

Le milieu préparé doit être conservé dans flacon, le but est de le conserver pendant une semaine ou il doit être stérilisé par autoclavage.

1.1. Culture de spiruline :

La culture de spiruline se fait en deux milieux de culture (milieu Zarrouk et le NPK).

Les cultures de spiruline sont réalisées au laboratoire dans des flacons de 2L maintenues dans les mêmes conditions d'éclairage, de température et de débit d'air. Le mélange des cultures est assuré par bullage d'air à l'aide de pompes à air et d'agitateurs magnétiques.

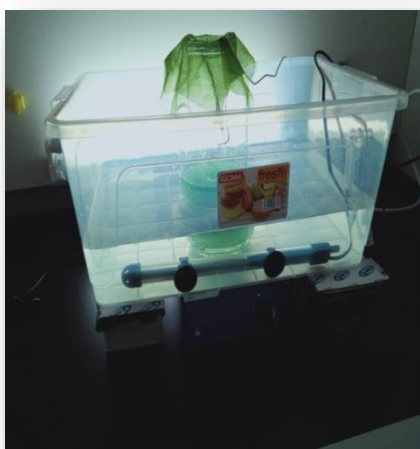


Figure 12 : les cultures de spiruline dans les deux milieux (photo originelle, 2021).

1.1.1. Les conditions environnementales :**-Milieu de culture :**

Le premier milieu de culture utilisé est le milieu Zarrouk, ce milieu contient tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de *Spirulina Platensis* à des concentrations bien supérieures aux besoins de l'algue (Zarrouk, 1966).

Mais le deuxième, est le NPK : 15, 15, 15 engrais de qualité complexe. La composition typique de l'engrais NPK-15: 15: 15 utilisé dans cette étude était le phosphate de diammonium: 50,04%; muriate de potasse: 43,98%; urée:%; silice: 3,6%; et humidité: 0,88%.

-Température

La température est maintenue à la valeur optimale de 32⁰C avec thermostat réglable. Donc nous avons un bon développement de notre cyanobactérie.

-Lumière

Un éclairage permanent est assuré à l'aide d'une lumière blanche par 1 tubes fluorescents de marque néant et d'une intensité lumineuse de 6000 lux branché avec une minuterie qui fonctionne de 6 :00 heures du matin jusqu'à 18 :00 heures du soir.

-Agitation

L'agitation est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air et par agitateurs magnétiques, fonctionnant pendant quinze (15) minutes par heure.

1.2. Récolte

Après 6 à 8 jours, la production est réalisée dans 500ml de milieu de culture jusqu'à 8L d'inoculum de spiruline concentré directement dans 20L de culture fraîche.

Lorsque la biomasse de spiruline optimale a été obtenue, la filtration a été effectuée actuellement en utilisant du papier filtre de qualité whatman 47mm de diamètre.

La récupération de la spiruline est réalisée en grattant doucement la biomasse et ensuite stocké.

1.3. Séchage

Après cette opération le séchage est réalisé dans l'étuve entre 80⁰C et 100⁰C pendant 24h.

2. Suivi de culture

La culture de spiruline est suivi pour les deux milieux (Zarrouk et NPK) par :

-La densité optique : mesurée à une longueur d'onde de 560 nm (ZARROUK, 1966), à l'aide d'un spectrophotomètre de type JENWAY modèle 7300 U.V.

-Le pH : Le pH mesuré quotidiennement par un pH-mètre de type HANNA modèle 584 Roumanie. Ces mesures quotidiennes ont permis de connaître l'alcalinité de la culture, car en dessous ou d'un certain seuil.

-la température : la T réalisée à l'aide d'une résistance d'aquarium, et mesurée par thermomètre.

- Observations à l'œil nu : l'observation visuelle du milieu de culture est un moyen de suivre la croissance du milieu de culture. Il identifie les problèmes possible tels que la couleur vert clair, la décoloration de certains supports, les amas de spiruline, la mousse et l'aire sur les parois des flacons. Le diagnostic de la couleur fournit généralement une bonne indication de l'état du milieu de culture.

-Le taux de croissance spécifique(TCS) : TCS a été calculé sur la période de croissance exponentielle à partir de la courbe de taux de croissance des micros algues modifiée sur une base logarithmique en fonction de temps. La période de croissance exponentielle est la partie linéaire de la courbe, donc TCS est calculé en utilisant la formule selon (Ketheesan & Nirmalakhandan, 2012) :

$$\text{TCS (\%)} = \frac{\ln C_f - \ln C_i}{t}$$

TCS : est le taux de croissance spécifique.

C_f : concentrations de la biomasse d'*Arthrospira platenlsis* en fin.

C_i : concentrations de la biomasse de *Arthrospira platenlsis* en début.

t : est sa durée en jour.

3. Dosage nutritionnelle

3.1. Dosage de protéine

La détermination de la teneur en protéine dans la spiruline est effectuée par la méthode de Kjeldahl.

Le principe de cette méthode basé sur une minéralisation de l'échantillon suivi d'une distillation et d'un titrage de l'ammoniac.

Le processus consiste en une minéralisation de l'achat d'un catalyseur CuSO_4 et K_2SO_4 et de l'approvisionnement de l'acide sulfurique. L'ammonium libéré suite à la minéralisation est distillé par NaOH pour ancien l'hydroxyde d'ammoniaque, récupéré subséquemment dans l'acide borique à une concentration de 20g/l en présence rouge de méthyle et du bleu de bromothylmol. L'azote totale est dosé par un titrage acide-base moyen sulfurique (Crooke & Simpson, 1971).

La teneur en protéines est calculée par la formule suivante en utilisant un facteur de conversion de 6,25:

$$P(\%) = \frac{N \times V \times 14 \times 6.25}{m} \times 100$$

Avec

P : Taux de protéines, exprimé en pourcentage (%) en masse.

N : normalité de l'acide sulfurique (H₂SO₄) 0,1 N.

V : Volume de l'acide sulfurique en litres.

m : la masse de l'échantillon analysé en g.

3.2. Dosage de lipide

La teneur en lipides a été déterminée par Soxhlet selon la méthode décrite par (Truzzi Et al., 2014). En utilisant l'hexane comme solvant pour l'extraction des lipides à l'aide d'un évaporateur rotatif. La matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète, le ballon a été pesé et la teneur en matière grasse déterminée par la différence entre la masse du récipient lipidique et celle du vide.

$$\text{Lipide (\%)} = \frac{M_1 - M_0}{P} \times 100$$

M₀ : masse en gramme du récipient vide.

M₁ : masse en gramme du récipient avec résidu de matière grasse.

P : la masse en gramme de la prise d'essai.

3.3. Détermination du taux de sucres totaux

Le taux de sucre est déterminé par la méthode de (Dubois Et al., 1956), un mélange de 1ml d'échantillon avec 5ml d'acide sulfurique et 1ml de phénol(5%) a été incubé à 100°C pendant 5min, cette réaction produit des dérivés de furfural qui se condensent avec le phénol pour produire un complexe coloré brun, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration du sucre. La densité optique a été déterminée à 490nm.

Le taux de sucre totaux est exprimé en (%) mg de sucre totaux par 100mg de biomasse.

3.4. Extraction et quantification phycocyanine

Un volume de 10ml d'*Arthrospira sp* est filtré à travers un filtre en microfibre, mis en suspension dans 10ml de solution de CaCl₂ à 10%, puis subit des cycles de congélation/décongélation en continu. Après l'apparition de la couleur bleu centrifugé à 4000rpm pendant 30min à 10°C, en lisant la DO à 620, 652 et 565nm à l'aide d'un spectrophotomètre de type JENWAY modèle 7300 U.V.

La concentration en Phycocyanine, pour une biomasse fraîche, est calculée selon la formule donnée par Bryant (Bryant Et al., 1976).

$$\text{Phycocyanine (mg/mL d'extrait)} = (\text{DO}_{620} - 0,72\text{DO}_{652}) / 6,29$$

Chapitre II :

Résultats et discussions

1. Suivi de la culture

1.1. Culture à petit échelle

A partir d'une petite quantité de suspension concentrée de spiruline obtenue à la ferme de Tamanrasset, nous avons commencé à augmenter le volume dans les flacons et béciers de capacité toujours croissante, pour atteindre l'échelle de production à grande échelle.

Les conditions de culture sont suivantes : la T° est 32°C, agitation en continu à l'aide pompe à l'aire, lumière,



Figure 13 : la culture en petit échelle pour les deux milieux (photo originale, 2021).

1.2. Culture a grand échelle

Le sujet de nos recherches est l'*Arthrospira sp* qui est cultivé à grande échelle dans deux milieu, à savoir le milieu de référence Zarrouk et le milieu NPK.

Pour cela nous avons utilisé deux boites en plastique.

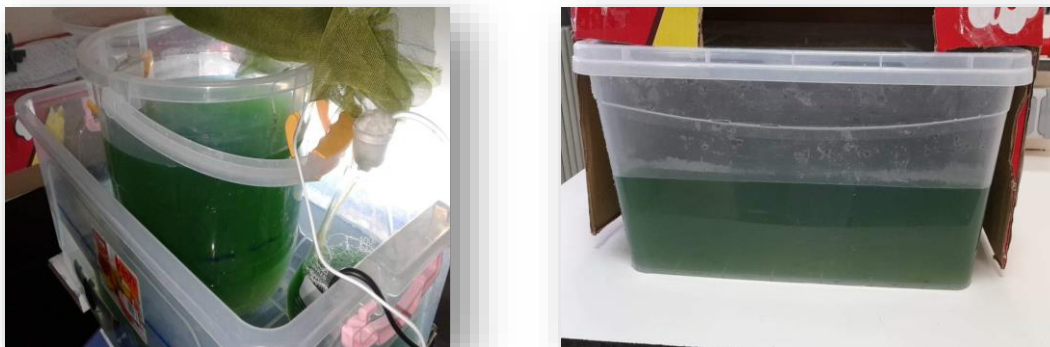


Figure 14 : La culture en grand échelle (photo original, 2021).

Lorsque les cultures en deux milieux sont développées, notre objectif est d'éliminer les bactéries, par conséquent pour réaliser une culture axiale, nous utilisant une technologie de purification par filtration, qui nous permet d'éliminer toute les bactéries photosynthétiques.

A l'issue de cette étape, nous avons obtenu une culture de spiruline c'est presque complètement pur.

1.3. Observation microscopique

Les résultats de l'observation microscopique de la souche *Arthrospira* sp sont présentés sur la **figure 15**.

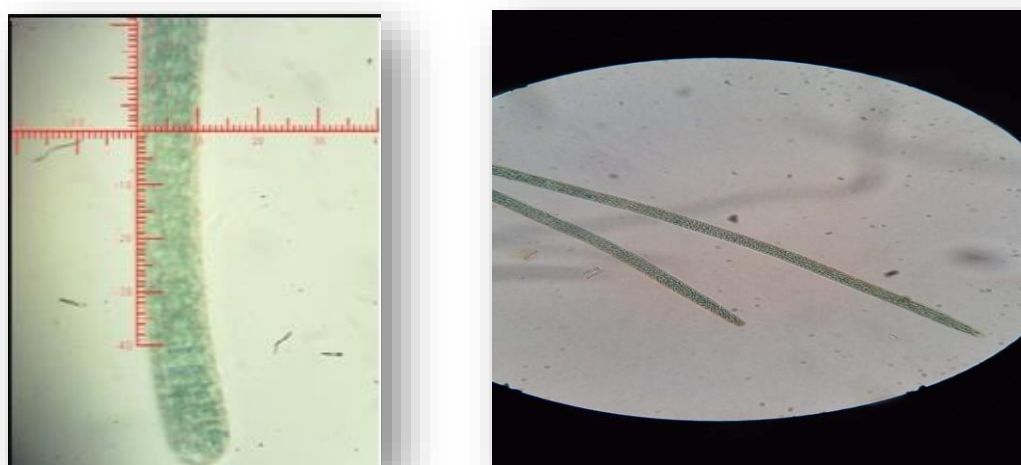


Figure 15 : Observation microscopique de la souche *Arthrospira* sp (G×40) (photo originale, 2021).

La souche isolé est caractérisée par des filaments droites, les caractéristiques morphologiques restants identifiées ceux rapportés dans un grand nombre de travaux sur la recherche morphologique de ce genre *Arthrospira* sp. Dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Caractères morphologiques d'*Arthrospira* sp (CHENTIR, 2018)

Souche	caractère morphologique
<i>Arthrospira</i>	<p>Trichome : en spires très ouvertes (droit) ;</p> <p>Couleur : vert ;</p> <p>Diamètre : 10 µm ;</p> <p>Longueur : 90 à 110 µm ;</p> <p>Parois : visible et granulée ;</p> <p>Gaine : absente ;</p> <p>Akinètes : absents ;</p> <p>Hétérocystes : absents ;</p> <p>Vacuoles : fortement présentes</p>

1.4. Température et pH :

La culture de spiruline est réalisée dans des conditions suivantes :

Tableau 13 : les conditions de culture au cours de la croissance de spiruline.

	1	3	5	7	9	11	13	15
PH	8.5	8.7	9	9.2	9.5	9.7	10.1	10.5
T	32	32	32	32	32	32	32	32

L'évolution du pH au cours du temps dans les milieux de culture (milieu Zarrouk et NPK) est présenté par le tableau13 .

Les valeurs de pH sont sensiblement élevé dans les deux milieux, la valeur maximale est 10.5 tandis que la valeur minimale est 8.5. D'un milieu à l'autre, le PH ne varie pas significativement.

L'augmentation du pH est due à une diminution du CO₂ du milieu en relation avec l'activité photosynthétique au cours de la croissance de cyanobactérie (Bellahcen et al., 2013)

Selon (DOUMANDJI et al., 2012), une élévation de pH représente un indicateur positif de l'efficacité photosynthétique.

La température de milieu a été maintenue tout au long de la période de culture dans les deux milieux, où elle a été estimée à 32°C.

2. Evolution de la biomasse de *spirulina platensis*

La croissance de la souche d'*Arthrospira platensis* a été évaluée le suivi de l'évolution de la concentration de biomasse de la culture mère, sur une période de 15 jours.

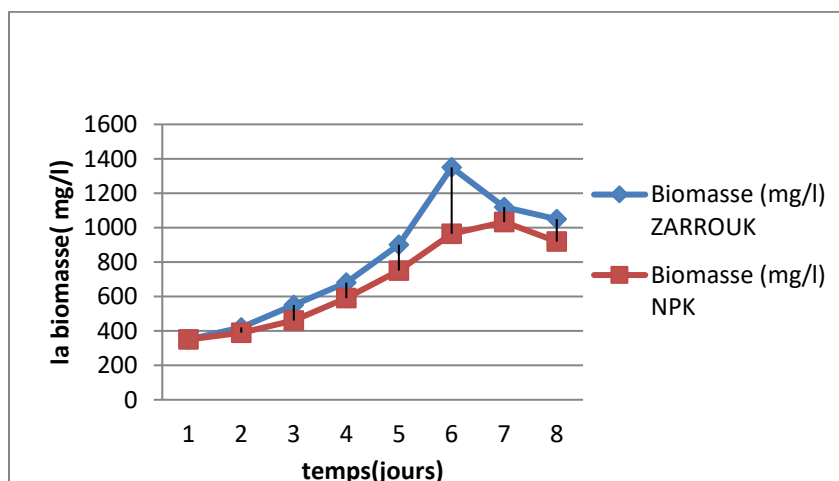


Figure 16 : Evolution de la biomasse de *spirulina platensis* dans les deux milieu (Zarrouk et NPK).

La cinétique de croissance (figure16) indique que la phase de latence est observé entre les jours 1 et 2 de la culture pour les deux milieux, ou la biomasse n'a pas été différente de celle enregistrée lors de l'ensemencement (jour 0) 0.35g/l.

Alors que la phase exponentielle a été observée entre les jours 3 et 9, la spiruline est dans un état de croissance maximale et se multiplie rapidement. On constate que la biomasse a doublé et enregistré une concentration de 1.35g/l dans les 11^{ème} jours pour le milieu Zarrouk et 0.964g/l pour le milieu NPK dans les 13^{ème} jours.

Après il ya une diminution de biomasse dans les milieux aux 13 et 15 jours de culture.

Donc, la croissance de la cyanobactérie *Arthrospira platensis* au cours de temps, indique un développement plus important dans le milieu Zarrouk par rapport au milieu de culture NPK.

Le développement est dû à la supplémentation sur milieu de culture en éléments nutritifs décrits par (Zarrouk, 1966). En effet les cyanobactéries utilisent les éléments minéraux présents dans ce milieu à assurer sa croissance grâce au mécanisme de la photosynthèse.

3. Résultats des analyses biochimiques

Les résultats de l'analyse nutritionnelle effectuée sur la biomasse de la culture d'*Arthrospira platensis* présentés dans la figure suivante :

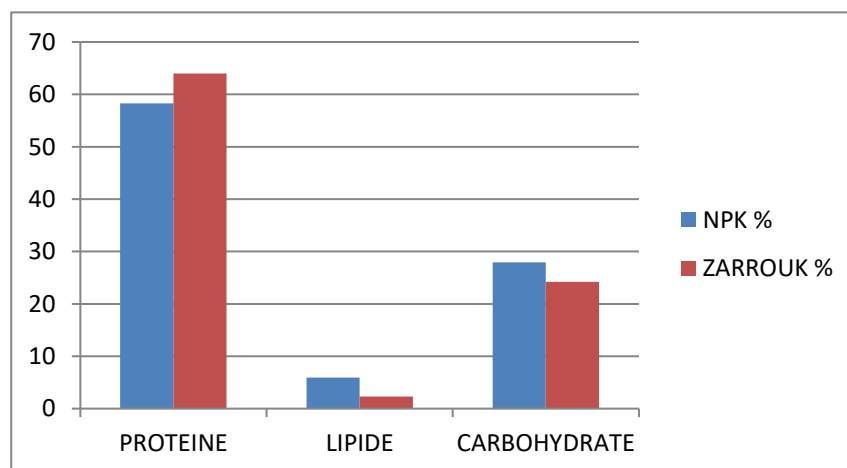


Figure 17 : Composition nutritionnelle générale de la *Spirulina platensis* cultivée sur le milieu Zarrouk et NPK.

Ces résultats indiquent que les composants les plus prédominants sont la protéine, ajoutée à une teneur en sucres totaux et suivie des lipides.

Les taux de protéines enregistrés sont 64% pour la spiruline sur Zarrouk, et 58.3% pour la spiruline en milieu NPK. Un certain nombre d'études ont admis que la teneur en

protéines de la spiruline varie entre 55% et 70% et ces pourcentages sont proche des teneurs de madagascar (Oliveira Et al., 2009).

La teneur en protéine montre que la souche de cette étude est une bonne source de protéines végétale, ou elle est supérieure que le taux de protéine alimentaire connus : levure de bière (38.8%), lait écrémé (35.9%), viande (34.3%), graines de Soja (38%) (Markou et al., 2013).

Le soufre est fourni sous forme de dioxyde de soufre(SO₂), qui est un composant de trois acide aminée (cystine, méthionine et cystéine) est nécessaire à la synthèse des protéines, ce qui peut en partie expliquer la teneur élevée en milieu Zarrouk (van Rijn & Shilo, 1986).

D'après la figure 17, la teneur en sucre présente 27% pour la spiruline cultivé dans milieu Zarrouk et 24% pour la souche en milieu NPK. Ces valeurs sont similaires a celle obtenues par d'autres auteurs de 10% à 25% (Markou Et al., 2013) ;(Fox, 1999).

Les glucides représentent 13.6% à 25% de la matière sèche de la spiruline. La paroi des spirulines, comme les bactéries à Gram négatif, est composé de glucosamine et d'acide muramique liés aux peptides (LAFRI, 2018)

La teneur en glycogène de la paroi de spiruline est estimée à environ 0.5% de son poids sec (FOX, 1999), et la teneur en cellulose est très faible, soit 0.5% de son poids frais (Jacquet, 1974).

La spiruline est également composée de polysaccharides sulfatés spécifique, comme la spiruline calcique (Ca-sp) ou la spiruline sodique (Na-sp) (Lee Et al., 1998).

Concernant les matières grasses, les résultats trouvés allaient 5.9% et 2.3% pour la spiruline cultivé sur milieu Zarrouk et les spirulines cultivées sur milieu NPK étaient respectivement. Ces contenus sont similaires à ceux donnés dans l'intervalle atteint dans plusieurs travaux, allant de 5.6% à 7% (Girardin-Andréani, 2005 ;Harriman Et al., 1989 ;ROSS & DOMINY, 1990).

La composition en lipide totaux se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable ou acides gras (83%) et une fraction insaponifiable (17%). La spiruline est un aliment à faible apport calorique (Clement & Rebeller, 1974 ;PIERLOVISI, 2008).

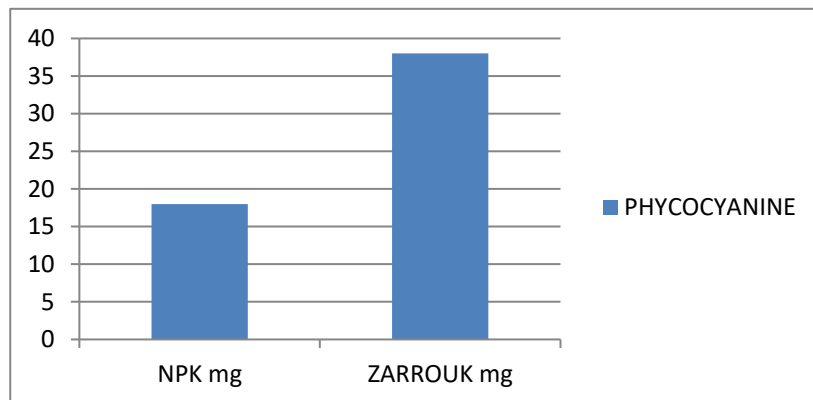
Teneur en phycocyanine

Figure 18 : le pourcentage en phycocyanine dans le milieu Zarrouk et le milieu NPK.

Nous avons remarqué que la concentration en phycocyanine de la spiruline des deux milieux variait entre 38mg/l pour la spiruline cultivée sur milieu Zarrouk et 18 mg/l de matière sèche de phycocyanine lorsqu'elle est cultivée sur milieu NPK alors que selon (Abd El-baky et al., 2004) ont obtenu une concentration en phycocyanine de l'ordre de 106.4mg/l.

En effet, quel que soit le minimum ou la maximum valeur enregistrée, la concentration de spiruline cultivée dans milieu Zarrouk est nettement supérieure à la valeur observée en milieu NPK.

Par conséquent, il apparaît que le nitrate de sodium NaNO_3 est requis pour la synthèse des acides aminés, ce qui rend les protéines et d'autres composants cellulaires tels que les chlorophylles et la phycocyanine (Abd El-Baky, 2003 ; Colla Et al., 2007).

L'intensité lumineuse, la souche ainsi que les conditions de culture semblent avoir un effet sur la teneur en ces pigments.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Dans les pays développés, même si la spiruline n'a suscité l'intérêt des scientifiques que tardivement, elle jouit aujourd'hui d'un intérêt grandissant grâce à ses multiples propriétés thérapeutiques. Ces effets bien qu'étant plus préventifs que curatifs, en font un complément alimentaire de choix pour prévenir la survenue de maladies tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers ou les infections virales, mais aussi pour diminuer les effets secondaires de traitements médicamenteux lourds tels que le sont les traitements antinéoplasiques ou antirétroviraux. Pour une fois, le terme d'aliment fonctionnel pourrait être employé à juste titre, tant le nombre et la qualité des études scientifiques portant sur la spiruline attestent de sa réelle valeur nutritionnelle et de certains effets thérapeutiques (Sguera, 2008).

Dans notre étude nous avons obtenu au 11^{ème} jour de culture, une augmentation maximale de biomasse de 1.35g/l dans le milieu standard Zarrouk mais dans le 13^{ème} jour est obtenu 1.03g/l de concentration de *spirulina platensis* dans le milieu NPK. Dans des conditions ambiantes de culture, du point de vue de la température du milieu de culture, il semble que la *spirulina platensis* préfère une température plus basse que la température de FOX de 37°C. Le potentiel hydrogène optimale est un paramètre très important pour une bonne culture, il varie entre 9 et 10 unités de pH, une agitation en continu semble avoir un meilleur effet sur la croissance de la spiruline, qu'une agitation manuelle en discontinu.

La spirulina algérienne possède les principales caractéristiques biochimiques des autres souches de spiruline. Etant donné que sa teneur minimale en glucides est de 24% et 27.9% pour le milieu Zarrouk et NPK respectivement. Ces valeurs sont similaires à celle obtenues par d'autres auteurs de 10% à 25%(FOX, 1999 ; Markou et al, 2013). Et la teneur en matière grasses de 5.92% dans milieu NPK et 2.3% pour le milieu Zarrouk, ces résultats sont similaires à ceux donnés dans l'intervalle atteint dans plusieurs travaux, allant de 5.6% à 7%.(Girardin-Andréani, 2005 ; Harriman et al, 1989 ; ROSS, & DOMINY, 1990). Ce n'est pas seulement un aliment énergétique mais aussi en raison de teneur en protéine de 58.3% à 64% pour les deux milieux NPK et Zarrouk respectivement ces pourcentages sont proche des teneurs de madagascar varie entre 55% et 70%(Oliveira et al, 2009). En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique et le taux de PC est de 38mg de spirulina cultivé en milieu Zarrouk et 18mg pur la spiruline de milieu NPK. Ces résultats sont inférieurs que celle obtenu par Abd El-baky et al, (2004) de l'ordre de 106.4mg/l.

Conclusion générale

Notre présent travail nous a permis de mieux connaître la *spirulina platensis*, de formuler un milieu de culture simple et peu coûteux à base d'engrais le NPK : 15 :15 :15 pour la production d'une bonne masse de *spirulina platensis* avec une bonne qualité nutritionnelle (biochimique) et de maîtriser ses conditions de culture.

En perspective, nous voulions d'utiliser plus d'un type de milieu de culture de NPK et de comparer les résultats entre eux, de fournir une production de spiruline en Algérie en grande quantité et bonne qualité nutritionnelle avec un prix moins cher et aussi des essais d'introduction de la spiruline dans le régime alimentaire algérien.

**Références
bibliographiques**

1. Abd El-Baky, H. H. (2003). Over production of phycocyanin pigment in blue green alga *Spirulr'na* sp. and it's inhibitory effect on growth of ehrlich ascites carcinoma cells. *J. Med. Sci*, 3(4),.
2. Abd El-baky, H. H., El Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2004). Production of antioxidant by the green alga *Dunaliella salina*. *Int. J. Agric. Biol*, 6.
3. Ahounou, M. N. (2018). *La spiruline: un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation*.
4. Babu, S. M., Gopalaswamy, G., & Chandramohan, N. (2005). *Identification of an antiviral principle in Spirulina platensis against Bombyx mori Nuclear Polyhedrosis Virus (BmNPV)*.
5. Bellahcen, T. O., Bouchabchoub, A., Massoui, M., & Yachioui, M. E. L. (2013). Culture et production de *Spirulina platensis* dans les eaux usées domestiques. *LARHYSS Journal P-ISSN 1112-3680/E-ISSN*.
6. Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *Journal of Cell Biology*, 58(2).
7. Benson, D. A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Wheeler, D. L. (2006). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 34(suppl_1), D16–D.
8. Bhat, V. B., & Madyastha, K. M. (2000). C-phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275(1).
9. Boone, D. R., Castenholz, R. W., & Garrity, G. M. (2001). *Vol. 1: The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria*. Springer, New York.
10. Bryant, D. A., Glazer, A. N., & Eiserling, F. A. (1976). Characterization and structural properties of the major biliproteins of *Anabaena* sp. *Archives of Microbiology*, 110(1).
11. Burkholder, P. R. (1934). Movement in the Cyanophyceae. *The Quarterly Review of Biology*, 9(4).
12. Carr, N. G., & Whitton, B. A. (1982). *The biology of cyanobacteria* (Vol. 19). Univ of California Press.
13. Castenholz, R. W., Rippka, R., Herdmann, M., & Wilmotte, A. (2001). Form-genus I. *Arthrospira* Stizenberger 1852. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1.
14. Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. *Rapport d'expertise Pour Le Ministère de l'Agriculture et de La Pêche*.
15. CHENTIR, I. (2018). *Optimisation de la culture de Spiruline et étude de son impact*

- sur ses performances nutritionnelles*. Université Blida1-Saad Dahlab.
16. Clement, G., & Rebeller, M. (1974). Etude de la culture des algues Spirulines dans l'eau de mer. *Institut Français Du Pétrole. Compte Rendu de Fin de Contrat d'une Recherche Financée Par La Délégation Générale à La Recherche Scientifique et Technique (DGRST). Contrat.*
 17. Colla, L. M., Furlong, E. B., & Costa, J. A. V. (2007). Antioxidant properties of *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated under different temperatures and nitrogen regimes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(1).
 18. Crooke, W. M., & Simpson, W. E. (1971). Determination of ammonium in Kjeldahl digests of crops by an automated procedure. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 22(1).
 19. Cruchot, H. (2008). La Spiruline, Bilan et Perspective. *Thèse de Doctorat En Pharmacie. Université de France-Comite.*
 20. DOUMANDJI, A., BOUTEKRABT, L., SAIDI, N. A., DOUMANDJI, S., Hamerouch, D., & Haouari, S. (2012). Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal. *Revue «Nature & Technologie»*. N, 6, 41.
 21. Doumenge, F., Durand-Chastel, H., & Toulemont, A. (1993). *Spiruline, algue de vie.*
 22. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. t, & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3).
 23. Elyah, A. (2003). Quel avenir pour la Spiruline. *Mem. Biblio. Univ. Montpellier II.*
 24. Falquet, J., & Hurni, J. P. (1986). *Spiruline: aspects nutritionnels*. Flamant vert.
 25. Farrar, W. V. (1966). Tecuitlatl; a glimpse of Aztec food technology. *Nature*.
 26. Fox, R. D. (1999). *La spiruline: Technique, pratique et promesse*. Edisud.
 27. Girardin-Andréani, C. (2005). Spiruline: système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytotherapie*, 3(4).
 28. Gugliemi, G., RIPPKA, R., & Tandeau de Marsac, N. (1993). Main properties that justify the different taxonomic position of *Spirulina* spp. and *Arthrospira* spp. among cyanobacteria. *Bulletin de l'Institut Océanographique (Monaco)*.
 29. Halfen, L. N., & Castenholz, R. W. (1971). Gliding motility in the blue-green alga *Oscillatoria princeps*1. *Journal of Phycology*, 7(2).
 30. Harriman, G. R., Smith, P. D., Home, M. K., Fox, C. H., Koenig, S., Lack, E. E., Lane, H. C., & Fauci, A. S. (1989). Vitamin B12 malabsorption in patients with

- acquired immunodeficiency syndrome. *Archives of Internal Medicine*, 149(9).
31. Hoseini, S. M., Khosravi-Darani, K., & Mozafari, M. R. (2013). Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(8).
32. Jacquet, J. (1974). Utilisations biologiques des Spirulines. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
33. Jarouliya, U., Anish, Z. J., Kumar, P., Bisen, P. S., & Prasad, G. (2012). Alleviation of metabolic abnormalities induced by excessive fructose administration in Wistar rats by *Spirulina maxima*. *The Indian Journal of Medical Research*, 135(3).
34. Jeeji Bai, N. (1985). Competitive exclusion or morphological transformation? A case study with *Spirulina fusiformis*. *Algological Studies/Archiv Für Hydrobiologie, Supplement Volumes*.
35. Jourdan, J.-P. (2006). Cultivez votre spiruline. *Edt. Antenna Technologie*.
36. [Http://Www.Antenna.Ch/Documents/ManuelJourdan2061.Pdf](http://Www.Antenna.Ch/Documents/ManuelJourdan2061.Pdf).
37. Ketheesan, B., & Nirmalakhandan, N. (2012). Feasibility of microalgal cultivation in a pilot-scale airlift-driven raceway reactor. *Bioresource Technology*, 108.
38. LAFRI, I. (n.d.). *Optimisation des conditions d'extraction de la phycocyanine de la spiruline SP*. Université Blida1-Saad Dahlab.
39. Lee, J.-B., Hayashi, T., Hayashi, K., Sankawa, U., Maeda, M., Nemoto, T., & Nakanishi, H. (1998). Further purification and structural analysis of calcium spirulan from *Spirulina platensis*. *Journal of Natural Products*, 61(9).
40. Lounici, S. (2010). *Caractérisation de la spiruline: spirulina htam, optimisation de ses conditions de culture et application industrielle*. Blida.
41. Manet, A. (2016). *La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine*. Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d
42. Markou, G., Angelidaki, I., Nerantzis, E., & Georgakakis, D. (2013). Bioethanol production by carbohydrate-enriched biomass of *Arthrospira (Spirulina) platensis*. *Energies*, 6(8).
43. Mühling, M., Harris, N., Belay, A., & Whitton, B. A. (2003). REVERSAL OF HELIX ORIENTATION IN THE CYANOBACTERIUM ARTHROSPIRA 1. *Journal of Phycology*, 39(2).
44. Oliveira, E. G. de, Rosa, G. da S., Moraes, M. A. de, & Pinto, L. A. de A. (2009). Moisture sorption characteristics of microalgae *Spirulina platensis*. *Brazilian Journal*

- of *Chemical Engineering*, 26(1).
45. Parikh, P., Mani, U., & Iyer, U. (2001). Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*, 4(4).
46. PIERLOVISI, C. (2008). Composition chimique de la spiruline. *COLLOQUE INTERNATIONAL «SPIRULINE ET DÉVELOPPEMENT»*, 25.
47. Ponce-Canchihuamán, J. C., Pérez-Méndez, O., Hernández-Muñoz, R., Torres-Durán, P. V, & Juárez-Oropeza, M. A. (2010). Protective effects of Spirulina maxima on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids in Health and Disease*, 9(1).
48. Quillet, M. (1975). Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. *Annales de La Nutrition et de l'alimentation*.
49. Ramirez, D., González, R., Merino, N., Rodriguez, S., & Ancheta, O. (2002). Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice. *Mediators of Inflammation*, 11(2).
50. Richmond, A., & Becker, E. W. (1986). Technological aspects of mass cultivation, a general outline. *CRC Handbook of Microalgal Mass Culture*.
51. Romay, C. H., Armesto, J., Ramirez, D., González, R., Ledon, N., & Garcia, I. (1998). Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae. *Inflammation Research*, 47(1).
52. Romay, C. H., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D., & Rimbau, V. (2003). C-phycoerythrin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*, 4(3).
53. ROSS, E., & DOMINY, W. (1990). The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina plantensis*) for poultry. *Poultry Science*, 69(5).
54. Sguera, S. (2008). *Spirulina platensis et ses constituants: intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques*. UHP-Université Henri Poincaré.
55. Tiendrebeogo, S. E., Dissa, A. O., Tubreoumya, G. C., Haro, K., & Cherblanc, F. (2015). Couplage des mécanismes de déshydratation et du retrait de la Spiruline platensis «Arthrospiraplatensis» lors d'un séchage isotherme/Coupling mechanisms dehydration and shrinkage of Spirulina platensis «Arthrospiraplatensis» during isothermal drying. *Journal de La Société Ouest-Africaine de Chimie*, 40, 17.
56. Toxicologie, D., Brousseau, M., Biochimie, T., Décaudin, M., Pharmacie, B., Depreux, G. M., Icpal, P., Dine, M., Pharmacie, T., Dupont-Prado, M., Hématologie, A., Gressier, M., Pharmacologie, B., Luyckx, M., Pharmacie, M., Odou, M.,

- Pharmacie, P., Staels, G. M., & Cellulaire, B. B. (n.d.). *Université de Lille Faculté de Pharmacie Liste des Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers Civ. NOM Prénom Laboratoire Mme ALLORGE* <http://pharmacie.univ-lille2.fr>.
57. Truzzi, C., Annibaldi, A., Illuminati, S., Finale, C., & Scarponi, G. (2014). Determination of proline in honey: comparison between official methods, optimization and validation of the analytical methodology. *Food Chemistry*.
58. van Rijn, J., & Shilo, M. (1986). Nitrogen limitation in natural populations of cyanobacteria (*Spirulina* and *Oscillatoria* spp.) and its effect on macromolecular synthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(2).
59. Wang, X.-Q., Li, L.-N., Chang, W.-R., Zhang, J.-P., Gui, L.-L., Guo, B.-J., & Liang, D.-C. (2001). Structure of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* at 2.2 Å resolution: a novel monoclinic crystal form for phycobiliproteins in phycobilisomes. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 57(6).
60. Wheeler, D. L., Barrett, T., Benson, D. A., Bryant, S. H., Canese, K., Chetvernin, V., Church, D. M., DiCuccio, M., Edgar, R., & Federhen, S. (2007). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 36(suppl_1), D13–D21.
61. Zarrouk, C. (1966). Contribution a l'étude d'une Cyanophyce. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina mixima*. *Thesis. University of Paris, France*.

Annexes

Annexe 01

Tableau 01 : répartition géographique de *spirulina platensis* .

Noms des pays	Localisations précises
	AFRIQUE
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Soudan	Cratère de Djebel Marra
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Congo	Mougounga
Kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Tanzanie	Lac Natron
Tunisie	Lac Tunis; Chott el Jerid
Zambie	Lac Bangweoulou
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara
	ASIE
Inde	Lacs Lonar et Nagpur, réservoir près de Madurai
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Sri Lanka	Lac Beira
Pakistan	Mares près de Lahore
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de Radburi, 80 km au Sud-Ouest de Bangkok
Azerbaïdjan	
	AMERIQUE DU SUD
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Près de l'île d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; Lac Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac volcanique Quilotoa : cratère de 1km de diamètre

Annexes

	AMERIQUE DU NORD
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
	EUROPE
Hongrie	
France	Camargue

Annexe 02

-Méthode de dosage de protéine

Principe de la méthode

La détermination des protéines par la méthode Kjeldahl s'effectue en trois étapes:

Étape 1: Digestion ou minéralisation de l'échantillon

Pendant l'étape de la digestion, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique concentré à haute température, en présence d'un catalyseur et d'un sel:

L'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et de transformer l'azote protéique en ammoniac NH_3 . Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d'ammonium, par action de la base avec l'acide:

L'addition du sel K_2SO_4 a pour but d'élever le point d'ébullition de la solution pour accélérer la réaction de minéralisation de la matière organique.

Le catalyseur utilisé peut être Hg (HgO), Cu (CuSO_4) ou Se.

Étape 2: Distillation de l'ammoniac

Avant de distiller l'ammoniac à la vapeur d'eau, on doit libérer l'ammoniac sous la forme du sel $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ par l'addition d'une solution concentrée de NaOH en excès.

L'ammoniac est ensuite distillé par la vapeur d'eau et piégée dans une solution d'acide borique. L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels borates d'ammonium.

Étape 3: Titrage de l'ammoniac

L'ammoniac sous la forme de borates d'ammonium est titré directement à l'aide d'une solution standardisée d'acide, tel HCl ou H₂SO₄, et d'un indicateur.

On fait un blanc en mettant tous les réactifs sauf l'échantillon, pour soustraire l'ammoniac contenu dans les réactifs de l'ammoniac contenu dans l'échantillon.

Calcul du % de protéines dans l'échantillon

Le % de protéines dans l'échantillon est obtenu en multipliant le % d'azote par un facteur F dépendant du type d'aliment analysé.

$$P(\%) = \frac{N \times V \times 14 \times 6.25}{m} \times 100$$

P : Taux de protéines, exprimé en pourcentage (%) en masse.

N : normalité de l'acide sulfurique (H₂SO₄) 0,1 N.

V : Volume de l'acide sulfurique en litres.

m : la masse de l'échantillon analysé en g.

Annexe 03 :



Spectrophotomètre



Balance de précision



Centrifugeuse



Agitateur magnétique



pH-mètre

