ITAVI FILIÈRE PISCICOLE

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORET
avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

Projet « Spiruline Paysanne »

(CAS DAR 5504) (2015/2019)

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORET
avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

Eléments de présentations et transfert lors des Journées Annuelles de la FSF de 2016 à 2019

ITAVI FILIÈRE PISCICOLE

FÉDÉRATION DES SPIRULINIERS DE FRANCE

Dossier CAS DAR 2015 / 5504

« SPIRULINE PAYSANNE »

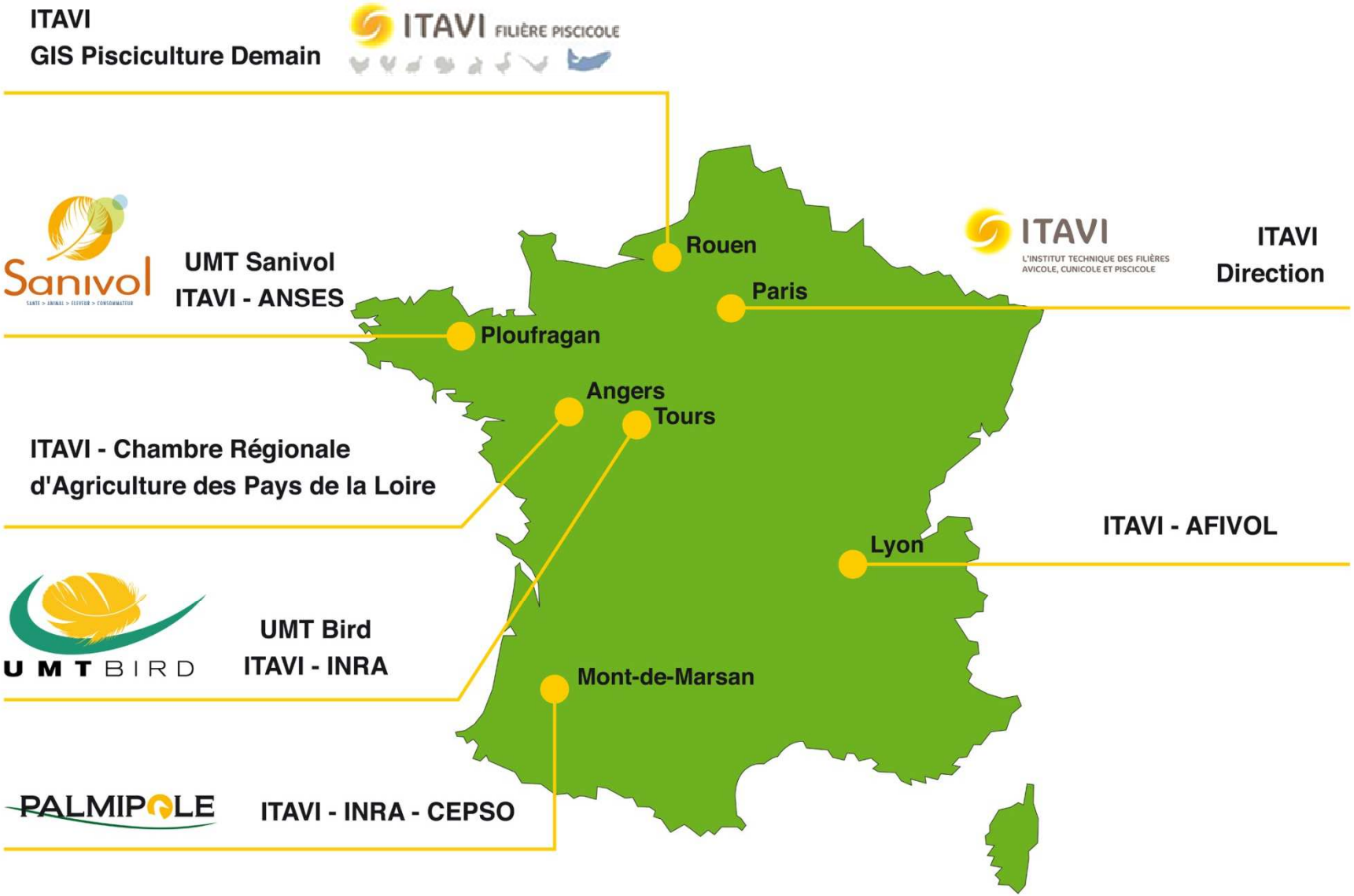
Rencontres FSF
2016

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

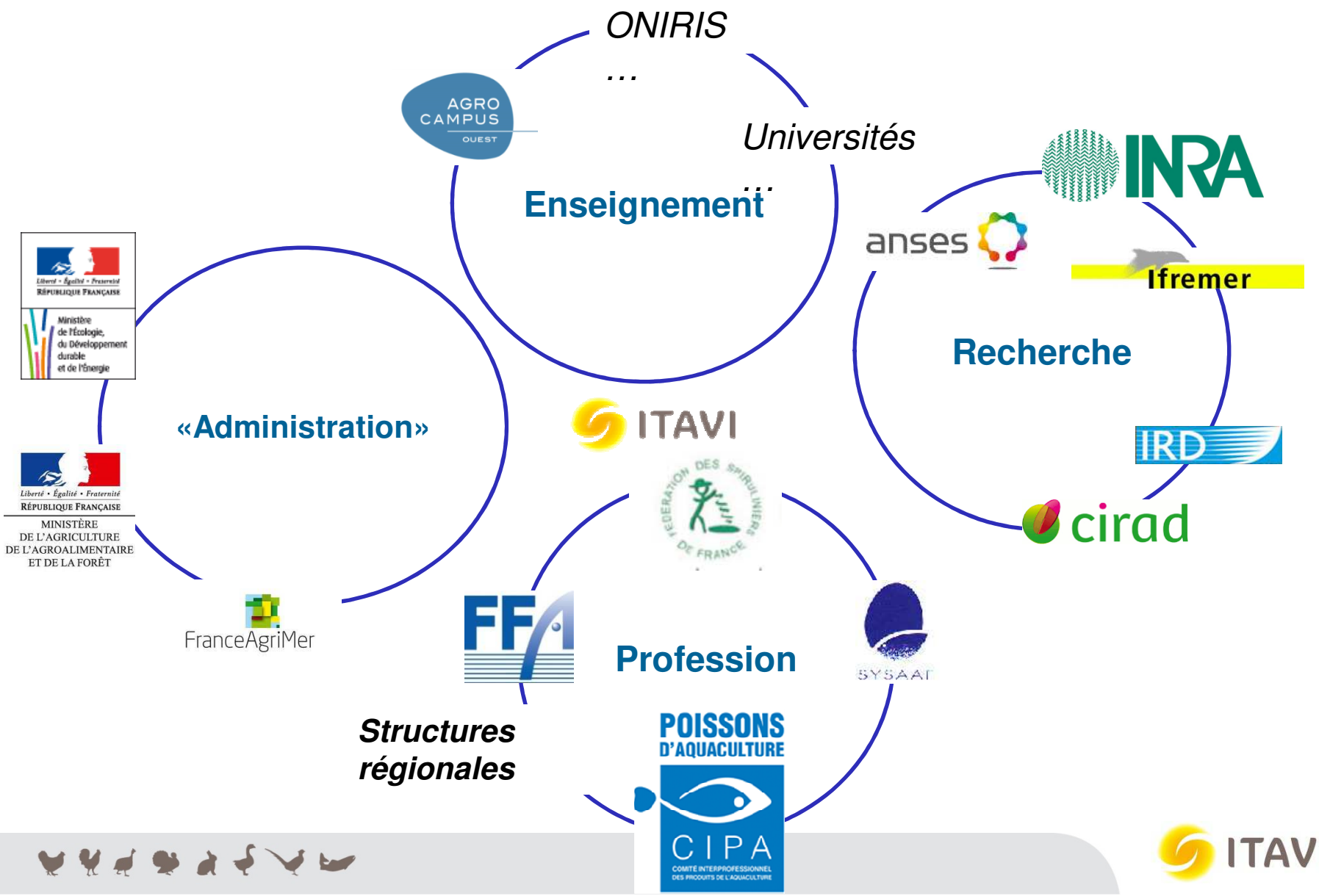
MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORET

avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural »

Un INSTITUT présent sur le territoire / qui travaille en partenariat avec d'autres institutions : *Institut Technique de l'AVIculture*



Institut Technique = une **INTERFACE**



ITAVI : **I**nstitut **T**echnique de l'**AVI**culture

Service « aquaculture »

Institut technique donc **objectif : soutien à la profession**

Aquaculture = ***pisciculture*** *(continentale **et** marine)* + *conchyliculture* + *algoculture*

* Mise en place d'actions // de solutions techniques :

→ **selon les besoins** exprimés par les filières
→ dans différents domaines :

1 Soutien Technique / Appui réglementaire
2 Recherche et Développement *(cf. GIS)*
3 Diffusion / Valorisation

« SPIRULINE PAYSANNE »

La production de spiruline « paysanne » en France : caractérisation des procédés, qualité des produits, reconnaissance et formation.

Un dossier initié en 2013 par la FSF

Contacts avec l'ITAVI / 2014

Dossier final construit et déposé ensemble : ***avril 2015***

Dossier Accepté : ***juillet 2015***

Démarrage : 25/11/15 pour 3,5 ans.

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORET

avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche (DGER)
DAR : Développement Agricole et Rural

Appels à projets tous les ans

« SPIRULINE PAYSANNE »

<u>Un dossier multi- partenaires</u> :

<u>L'appui d'experts au programme</u> :

AQMC

Limnologie

M JOURDAN

…

<u>Et l'appui sur l'ensemble des fermes de la FSF</u>

LES ACTIONS : *6 Axes / « vos questions »*

1/ Les procédés de culture : *caractérisation et définition des itinéraires techniques sur des fermes de référence*

2/ Les souches

3/ Pratiques de récolte, séchage et aspects sanitaires

4/ La transformation des produits et la qualité de la spiruline produite

5/ Vers la création d'un cahier des charges de production de « spiruline biologique »

6/ Des références sur la spiruline Française : *guide technique, formations, valorisation*

Nombreuses actions et sous actions ; liens entre actions ; pilote par actions et groupe technique

LES ACTIONS : *6 Axes*

1/ <u>Les procédés de culture</u> : caractérisation et définition des itinéraires techniques sur des fermes de référence *(Fermes FSF, ITAVI-RATHO, Lycées, FNAB)*

- **Milieux de culture** : *qualité eau / autres micro-organismes / EPS…/ agitation, pH, redox…<u>phormidium</u>….<u>autres cyanobactéries</u>*
- **Apports Carbone / Azote …:** *formes ? quantités / fréquences optimisées ?*
- **Autres apports :** *fer, magnésium, potassium, soufre…*
- **Besoins énergétiques :** *croissance selon apports énergétiques et lumineux ; Approche ACV*
- **Liens aquaponie**

2/ <u>Les souches</u> *(Fermes FSF, CEVA, FSF, ITAVI)*

- **<u>Identification des souches</u> / Isolement**
- **Caractérisation / Performances** *(productivité, floculation, sédimentation…)*
- **Séquençage**

LES ACTIONS : *6 Axes*

3/ <u>Pratiques de récolte</u> : ***(RATHO, Lycées, ITAVI, FSF)***

- *Lien au GBPH*
- Les étapes et conditions de récolte / Optimisation
- **Séchage** (durée, T°…) et qualité produit fini
- **Nettoyage et désinfection** *(matériel…)*

4/ <u>Transformation et Qualité</u> : ***(Lycées, ITAVI, FSF, FNAB,CEVA)***

- *Lien au GBPH*
- **Conservation** en frais / sec : T°, durée de vie, plan de contrôle
- **Données nutritionnelles**
- **Contaminants**
- **Benchmarking / Veille sur autres produits…**

LES ACTIONS : *6 Axes*

5/ <u>Cahier des charges de production de « spiruline biologique »</u>

(Lycées, ITAVI, FSF, FNAB,CEVA)

- *Lien action 1 : Sources azote / phosphore - Intrants minéraux*
- *Label « spiruline paysanne » ?*

6/ <u>Guide technique, formations, valorisation</u> *(Lycées, ITAVI, FSF, FNAB,CEVA)*

- Fiches et notes techniques des essais : guide ?
- Modules de formation (cf Lycées)
- Diffusion et présentation des travaux

Mise en place du comité de pilotage et groupe technique

Comité de Pilotage

PARTENAIRES	Titulaire	Suppléant
FSF	Nathalie de Poix	Sidonie Lameyre
RATHO	Stéphane Flammier	Bernard Darfeuille
CEVA	Pierre James	Amance Corat
FNAB	Clara Gasser	
Agrocampus Ouest	Christine Sage	Florent Spinec
Lycée de la Canourgue	Carole Rougé	Catherine Lejolivet
Lycée de Bréhoulou	Marie-Pierre Gousset	
Lycée d'Hyères	Gilles Grillet	
ITAVI	Aurélien Tocqueville	Pierre Foucard

Groupe Technique

PARTENAIRES	Membres
FSF	Nathalie de Poix, Emmanuel Gorodetsky , *Rémi Bosc, Bernhard Rampelt, Morgane Guéno-Bruneau*
RATHO	Bernard Darfeuille
CEVA	Amance Corat / Héléne Marfaing
FNAB	Clara Gasser
Agrocampus Ouest	Hélène Laguerre
Lycée de la Canourgue	Catherine Lejolivet, Lionel Valley / Claire Julien
Lycée de Bréhoulou	Jérôme Mahieu
Lycée d'Hyères	Rijà Rakotoarisao
ITAVI	Pierre Foucard, Aurélien Tocqueville

LES ACTIONS : *En cours / Planning*

- Espace partagé sur un drive internet
- Protocole d'accord : confidentialité, propriété et utilisation des résultats
- 3 réunions de comité de pilotage
- Protocoles en finalisation et Plan d'actions par partenaires

Planning 2016 :

Axe 1 MILIEUX :

Travaux lycées Brehoulou et Beg Meil

Démarrage au RATHO

Axe 2 SOUCHES :

Envoi des souches (Fermes FSF) /

Travaux du CEVA (+ Limnologie)

LES ACTIONS : *En cours / Planning*

Planning 2017 :

Axe 1 MILIEUX :

Suite des travaux lycées Brehoulou et Beg Meil : intrants azote et phosphore

RATHO : bâches / azote / agitation / CO2 + à venir serre tunnel

Lycée de Hyeres *(+ Limnologie)* : « Phormidium » (conditions apparition, croissance ph, lumière, agitation….etc) – gestion …

Suivis fermes FSF *(milieux / effluents)* **+ GBPH**

Axe 2 SOUCHES :

Travaux du CEVA *(+ Limnologie)* : performances souches *(milieu type) – cycle de croissance / composition nutritionnelle des souches*

Axe 3 RECOLTE :

Lycée de Hyères : filtration et pressage (comparaison table / machine ; rinçage ou non…)

Lycée de la Canourgue (site de Florac) : conservation fraiche…refroidissement, DLC…

Merci à tous de votre implication

Aurélien TOCQUEVILLE
Pierre FOUCARD

ITAVI *Service Aquaculture*
28 rampe Bouvreuil
76 000 Rouen

Tél. : 09.51.36.10.60

tocqueville@itavi.asso.fr
foucard@itavi.asso.fr

www.itavi.asso.fr
www.journees-de-la-recherche.org
www.gis-piscicultures-demain.fr

Projet CASDAR « Spiruline Paysanne »

Présentation du lancement de l'outil expérimental du *RATHO*

ITAVI FILIÈRE PISCICOLE

ASTREDHOR RHÔNE-ALPES-AUVERGNE Ratho

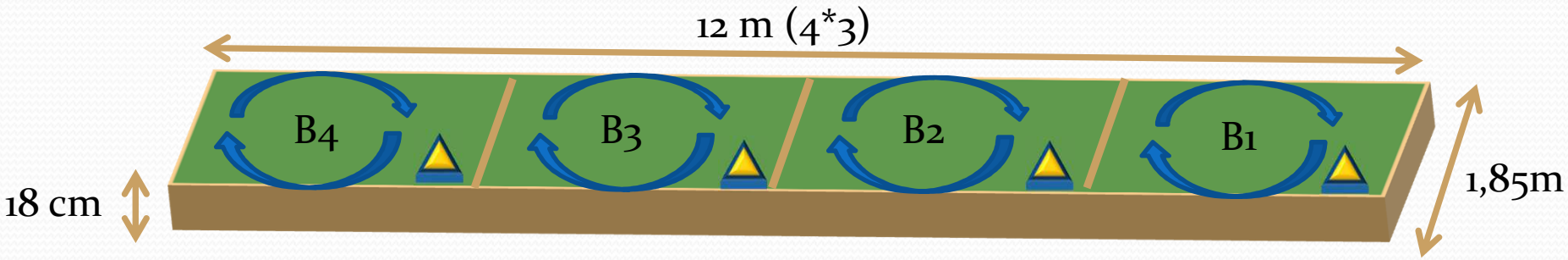
Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORÊT

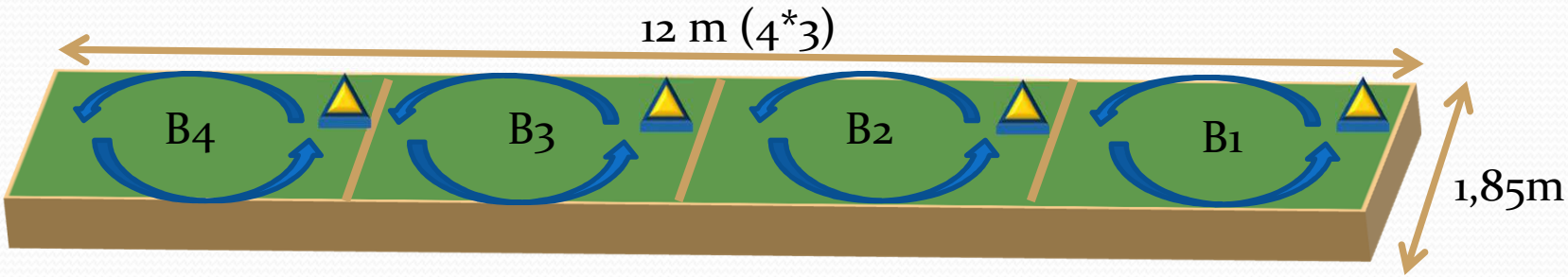
Avec la contribution financière
du compte d'affectation spéciale
«développement agricole et rural»

Schématisation de l'outil expérimental

Production de spiruline sous serre double vitrage : 2 secteurs



Un secteur <u>bâche PVC</u> alimentaire / 4 modalités, 4*5,5m³



Un secteur <u>bâche EPDM</u> alimentaire / 4 modalités, 4*5,5m³

… A terme, mise en place de bassins de culture sous tunnel

Brassage de l'eau et entretien des bassins

Programmateurs

Pompes 6,5 m³/h

Tuyau de rinçage
(bord des bassins)

→6,5 m3/h pour mimer le fonctionnement des roues à aubes (dimensionnement sur la base de la Spiruline du Dauphiné)
→15 minutes de fonctionnement pour 15 minutes d'arrêt de 5h00 à 22h00 (en journée)
→15 minutes de fonctionnement pour 45 minutes d'arrêt de 22h00 à 5h00 (la nuit)

Paramètres d'ensemencement et de culture

Milieu culture	Unité	par m3
bicarbonate de soude	kg	8
sel	kg	4
nitrate de potasse	kg	0,2
sulfate de magnésie	kg	0,2
urée	kg	0,02
ferleaf	kg	0,008
phosphate monoammoniaque	kg	0.2
OLIGO ML	mL	5

Caractéristiques bassins de culture	
Volume d'eau (m^3)	1,15
Hauteur d'eau (cm)	18

Paramètres suivis

Paramètre	Fréquence
Température de l'eau (°C)	Journalier
Température de la serre (°C)	
Intensité lumineuse (PAR) [W/m²]	
pH	
Taux d'oxygène (mg/L)	
Conductivité (mS/cm)	
Potentiel redox (mV)	
Salinité (‰)	
Mesure Secchi	
Hauteur d'eau (cm)	
Quantité d'eau évaporée (ajout en fonction) [L]	
Apparence à la loupe binoculaire	Hebdomadaire
Nitrates	
Autres nutriments (NH4, NO2, PO4, K, Ca, Mg, Fe, SO4, Cl)	Mensuel?
Récolte poids sec/poids frais (kg) / Taux de siccité (%) / Ajout intrants (kg/m³)	A la récolte

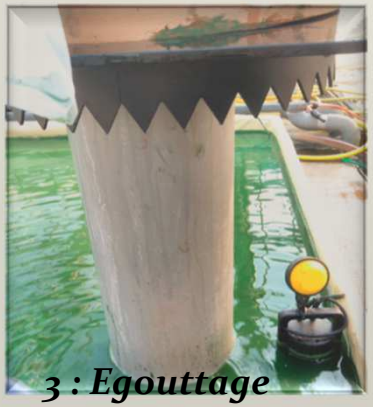
Outil de suivi en ligne

Mise au point d'un système de récolte dimensionné pour l'outil

Récolte

1: Toile 20 µm

2: Filtration de la spiruline



3 : Egouttage

4 : Presse de la spiruline

Filtration

5 : Presse de la spiruline

6 : Obtention d'une pâte à 16% de siccité

Presse et séchage

Premiers résultats de rendement

4,9 kg de spiruline pressée fraîche, pour 22m² de culture

Récolte 3 semaines après ensemencement

→Obtention d'une pâte à 16% de siccité après presse

→Séchage à l'étuve à 60°C pendant 24H (en attendant d'aller plus loin dans le process de récolte)

Objectif: sécher rapidement la spiruline après les expérimentations + déterminer intrants à ajouter (abaques)

Milieu de récolte	Unité	par kg sec
bicarbonate de soude (kg)	kg	3
sulfate de potasse (g)	g	40
sulfate de magnésie (g)	g	30
urée (g)	g	300
ferleaf (g)	g	10
phosphate monoammonique (g)	g	60
OLIGO ML	ML	5

Expérimentations à mettre en place

Expé N°1: étude du relargage de composés par les géotextiles PVC et EPDM + perte de masse

Travail conjoint avec des partenaires fournisseurs (Ferrari)

<u>Expé N°2:</u> alimentation azotée de la spiruline

Témoin **:** alimentation azotée à base **urée** (300 g / kg sec spiruline récoltée) en une fois après la récolte.
Tests**:** alimentation à base d'urée, d'alcali et autres intrants azotés alternatifs.

<u>Expé N°3:</u> Etude de l'impact de l'agitation sur le fractionnement des spires

<u>Expé N°4:</u> Etude de valorisation thermique des flux d'air des serres

<u>Expé N°5:</u> Bilan de masse et ACV

Merci de votre attention

Aurélien TOCQUEVILLE
Pierre FOUCARD

tocqueville@itavi.asso.fr
foucard@itavi.asso.fr

www.itavi.asso.fr

Pierre
Foucard

ITAVI FILIÈRE PISCICOLE

ASTREDHOR RHÔNE-ALPES-AUVERGNE Ratho

FEDERATION DES SPIRULINIERS DE FRANCE

Utilisation d'intrants ammoniacaux:
Alcali et Sulfate d'ammonium
et
Première approche d'utilisation d'intrants organiques
Pour la culture de spiruline

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION

avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural »

ACTION CASDAR: « ALIMENTATION AZOTEE DE LA SPIRULINE »

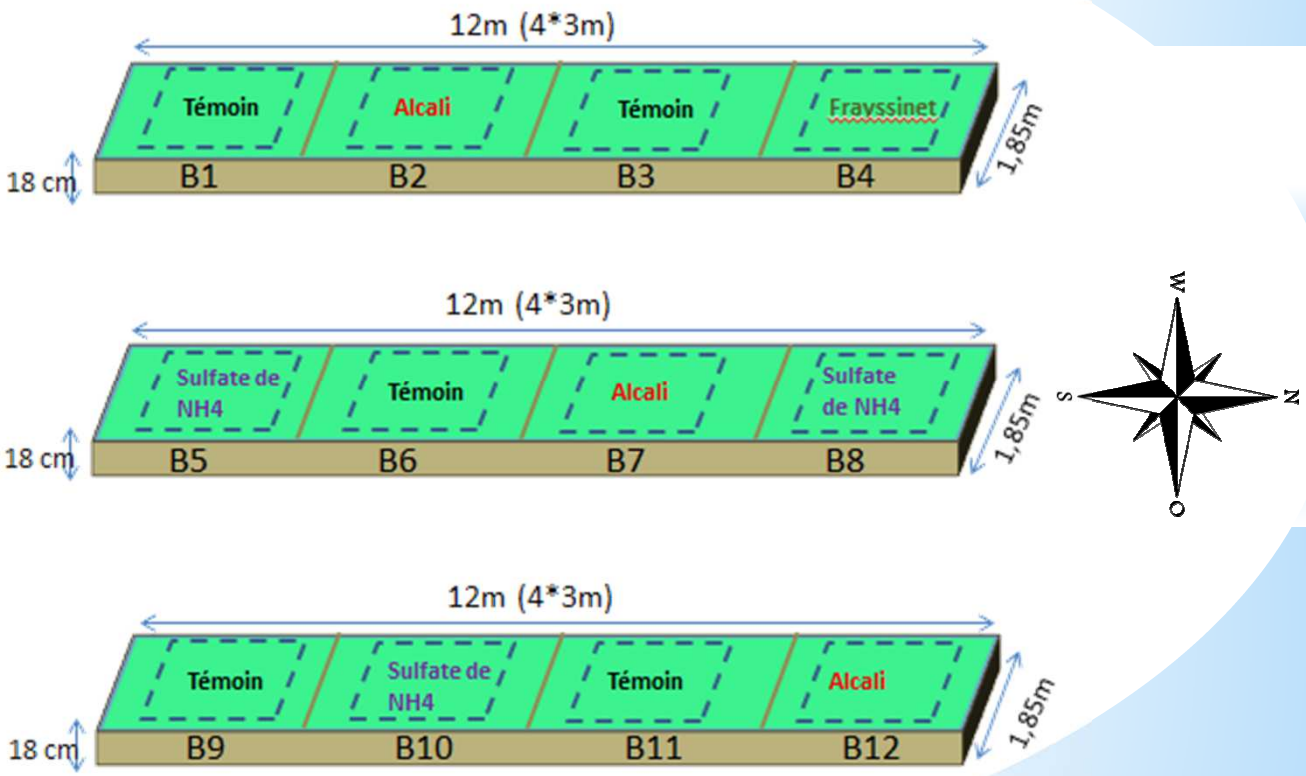
Journée CASDAR « SpirulinePaysanne Française » - Mardi 21 novembre 2017 - Mèze

Matériel d'expérimentation

- 12 bassins, structure en bois et bâchés
  - 60m² de culture (5m² par bassin)
  - 12m³ de culture (1m³ par bassin)
    - Serre verre, double vitrage

3 modalités testées, avec 3 réplicats:
-Témoin conventionnel milieu urée
-Modalité alcali (Alcion Environnement)
-Modalité sulfate de NH4 (Suez)

1 modalité testée sans réplicat:
-Modalité « Frayssinet Nutribio/Nutrikali



Présentation des intrants testés:

« ***Alcali*** »: entreprise Alcion, valorisation Azote ammoniacal usines de compostages

« ***Sulfate d'ammonium*** »: entreprise Suez, valorisation Azote ammoniacal boues de méthanisation

« ***Nutrikali 4-0-7*** » ***et*** « ***nutribio 3-5-4*** »: entreprise Frayssinet, acides aminés élaboré par hydrolyse enzymatique sur protéines végétales

Formulation des milieux

Milieu de culture de référence (base urée)		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	8
Sel	kg	4
Nitrate de potasse	kg	2
Sulfate de magnésie	kg	0,2
Urée	kg	0,02
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Phosphate monoammonium	kg	0,2
Oligo élements	mL	5

Milieu de récolte de référence (base urée)		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume / kg de spiruline sèche récoltée
Bicarbonate de soude	kg	3
Sulfate de potasse	kg	0,04
Sulfate de magnésie	kg	0,03
Urée	kg	0,3
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Phosphate monoammonium	kg	0,06
Oligo élements	mL	5

Milieu de culture "Sulfate de NH4 Suez"		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	8
Sel	kg	4
Sulfate de magnésie	kg	0,2
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Sulfate de potassium	kg	1,72
Phosphate monoammonium	kg	0,2
Oligo élements	mL	5

Milieu de récolte "Sulfate de NH4 Suez"		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	3
Sulfate de potassium	kg	0,04
Sulfate de magnésie	kg	0,03
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Phosphate monoammonium	kg	0,06
Oligo élements	mL	5

Milieu de culture " alcali "		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	8
Sel	kg	4
Sulfate de magnésie	kg	0,2
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Sulfate de potassium	kg	1,72
Phosphate monoammonium	kg	0,2
Oligo élements	mL	5

Milieu de récolte " alcali "		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	3
Sulfate de potassium	kg	0,04
Sulfate de magnésie	kg	0,03
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Phosphate monoammonium	kg	0,06
Oligo élements	mL	5

Milieu de culture "Frayssinet »		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	8
Sel	kg	4
Nutribio 3-5-4	L	2,45
Nutrikali	L	5,55
Sulfate de magnésie	kg	0,18
Ferleaf 10=10 g/l Fe	kg	0,01
Oligo élements	mL	5

Milieu de récolte "Frayssinet"		
Produit	Unité de volume d'apport	Unité de volume/m³ de culture
Bicarbonate de soude	kg	3
Nutribio	L	0,74
Nutrikali	L	3,02
Sulfate de magnésie	kg	0,021
Ferleaf 10 =10 g/l Fe	kg	0,01
Oligo élements	mL	5

A sources d'azote différentes, méthodes d'apports différentes:

Milieux « alcali » et « sulfate d'ammonium »:
Apport de l'azote ammoniacal de manière journalière: 20 mg/L/jour

Milieux « conventionnel » et « Frayssinet »:
Apport de l'azote (urée ou azote organique) au début de la culture (310 mg/L), et compensations en fonction de la quantité de MS récoltée

Paramètres de culture /récolte / séchage

- **Souche:** Paracas
- **pH de départ:** 9,5
- **Température minimale assurée dans milieu de culture:** 20°C
- **Source d'eau:** réseau eau potable
- **Débit de brassage:** 6 m^3/h / utilisation de pompes
  - *→15 minutes de fonctionnement pour 15 minutes d'arrêt de 7h00 à 20h00*
  - *→15 minutes de fonctionnement pour 45 minutes d'arrêt de 20h00 à 7h00*
- **Méthode de récolte et de séchage:** flottaison / écrémage, séchage échantillons 6H à 40°C à l'étuve.

Programmateurs

Pompes 6,5 m^3/h

Tuyau de rinçage (bord des bassins)

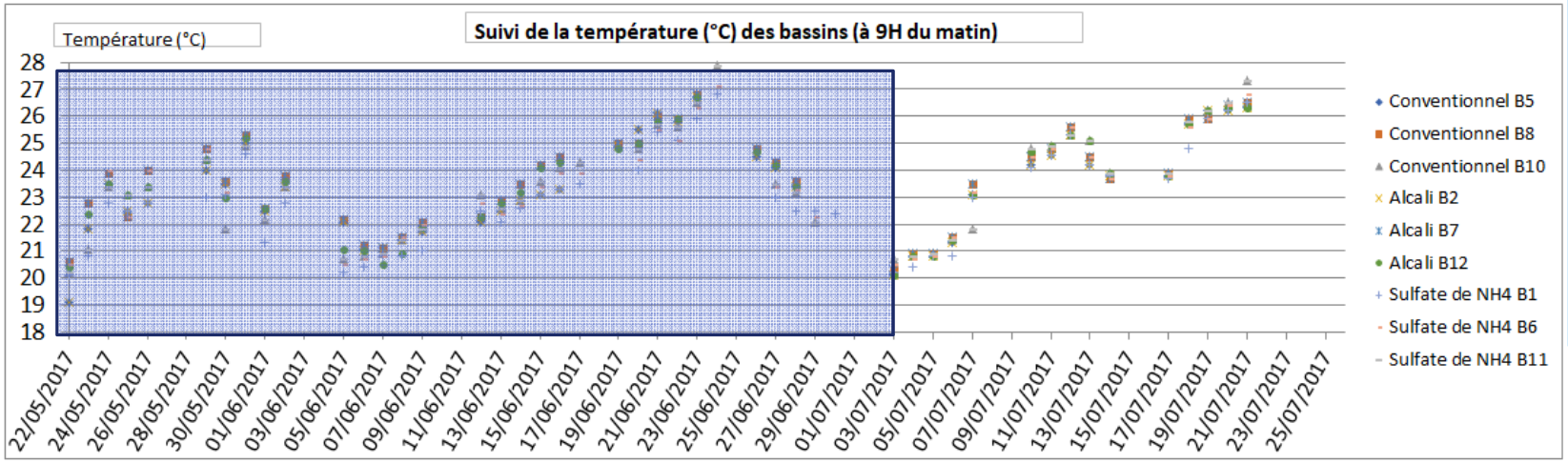
Paramètres de suivi

Paramètre mesuré	Unité	Fréquence		Matériel de mesure
T° eau	°C	Journalier (matin)	Si possible en continu avec sondes CEA	Sonde Hach
pH	/	Journalier (matin)		
O2	ppm	Journalier (matin)		
Conductivité	mS/cm	Journalier		
NH4/NO3/NO2	mg/L	2 * par semaine / Batch de triplicatas pour toutes les modalités à tester		Tests Cuve Spectrophotomètre Hach / Ou Labo Eurofins
PAR	W/m²	En continu		Capteur de PAR

Paramètre mesuré	Unité	Fréquence	Méthode
Quantités récoltées poids humide	kg	Hebdomadaire à bi hebdomadaire	Presse à X pascals puis balance de précision (0,1g près)
Quantités récoltées poids sec	kg		Passage à l'étuve puis balance (0,1g près)
Taux de siccité	%MS		(Poids sec/poids humide)*100
Secchi	/	Tous les jours	Disque de Secchi
Observation microscopique/nbre spires/morphologie	/	Hebdomadaire	Microscope RATHO
Dénombrement cyanobactéries sur milieu de cultures	/	Mensuelle	Prélèvement et envoi à Limnologie sarl
Bactériologie sur spiruline « fraîche »	/	Une fois par essai	Labo Eurofins

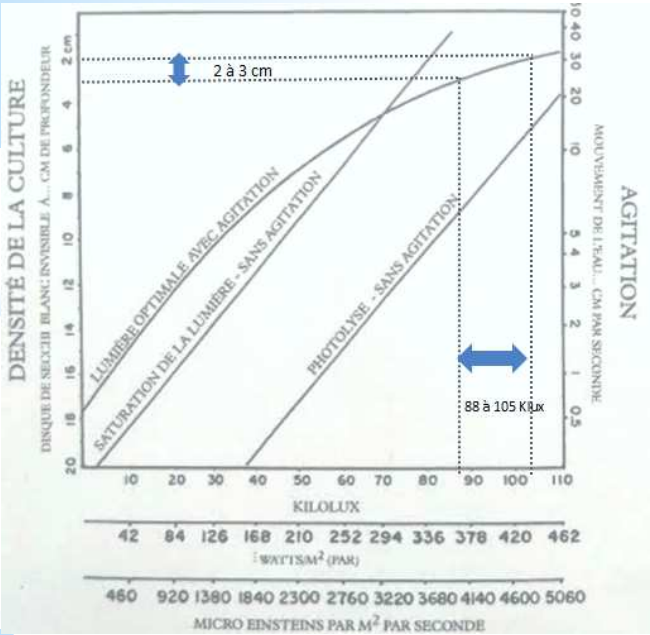
Suivi température de l'eau, pH, conductivité

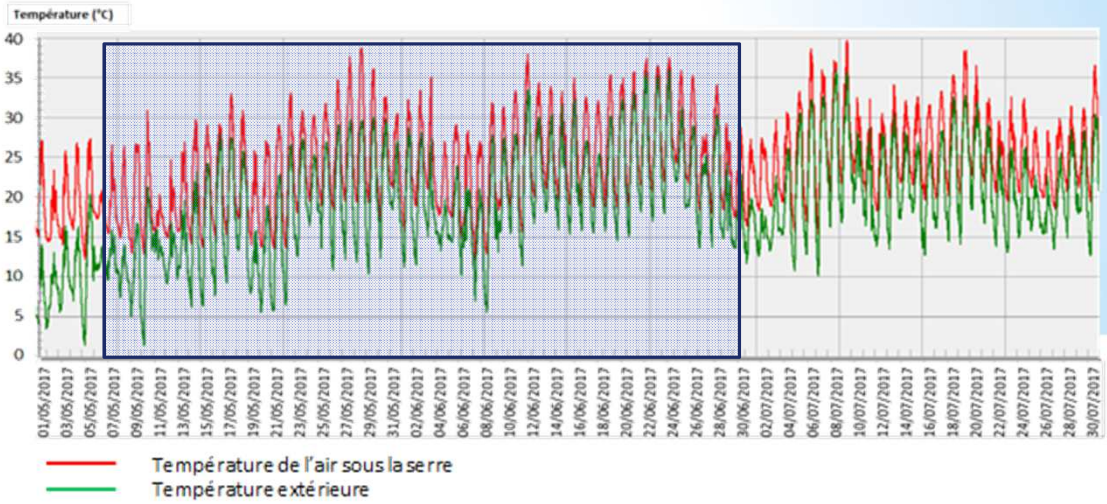
Mesures prises à 9H du matin

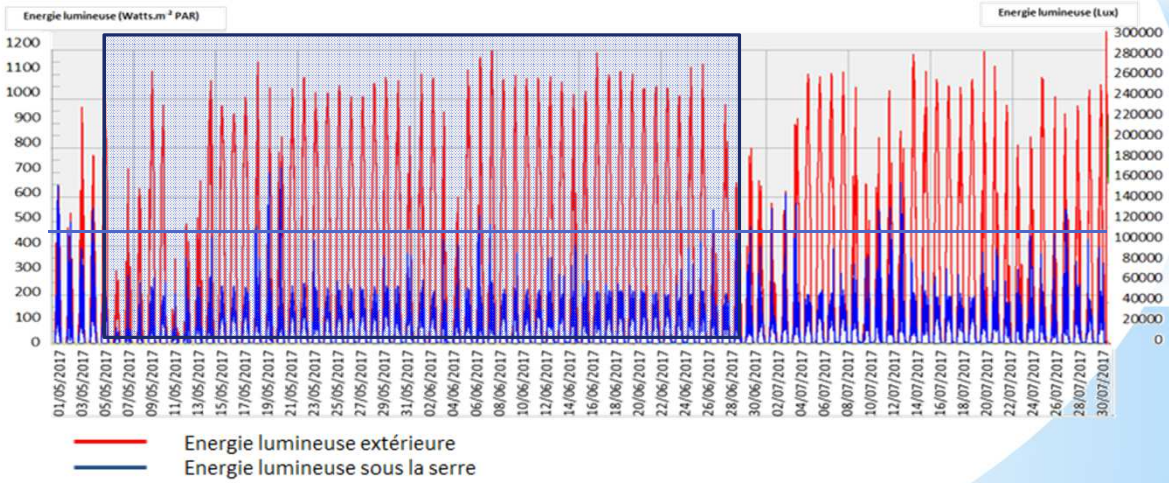


- **Température de l'eau à 9H du matin:** varie entre 20 et 27°C
- **pH de l'eau à 9H du matin:** varie entre 9,5 et 10,3 ; sauf pour 2 bassins « sulfate de NH4 », chute à 8,5 pour deux bassins fin juin (« mort » des bassins)
- **Conductivité: 18 à 19 mS/cm, pour une salinité de 10 à 11 g/L Na+**

Suivi température et luminosité dans la serre

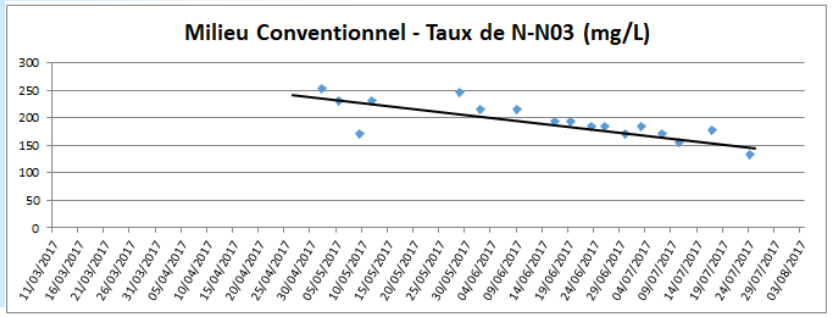


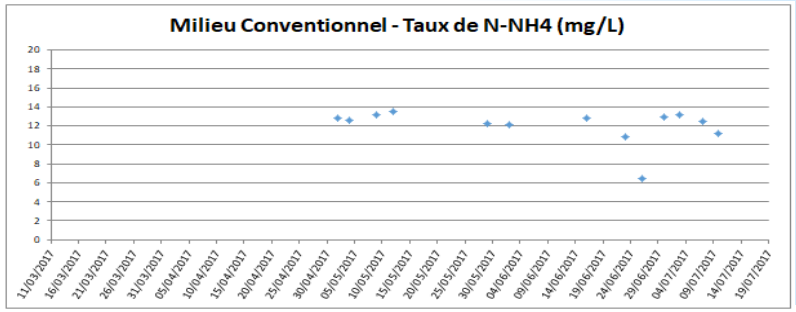


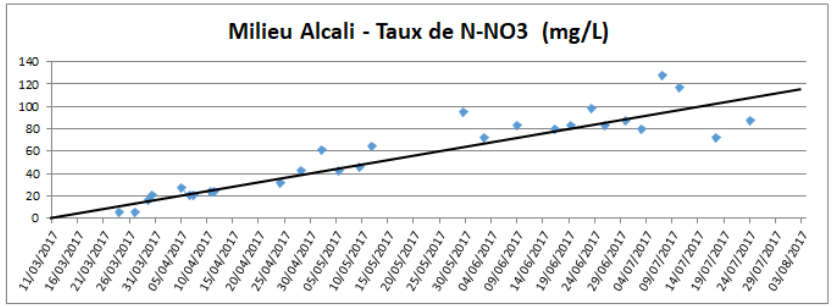


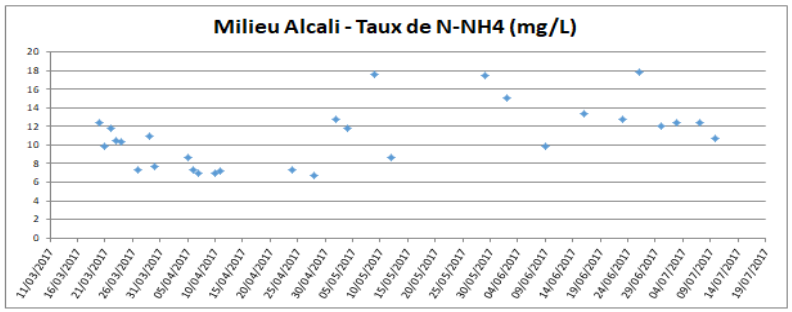
Suivi N-NH4 (azote ammoniacal) et N-NO3 (azote nitrique)

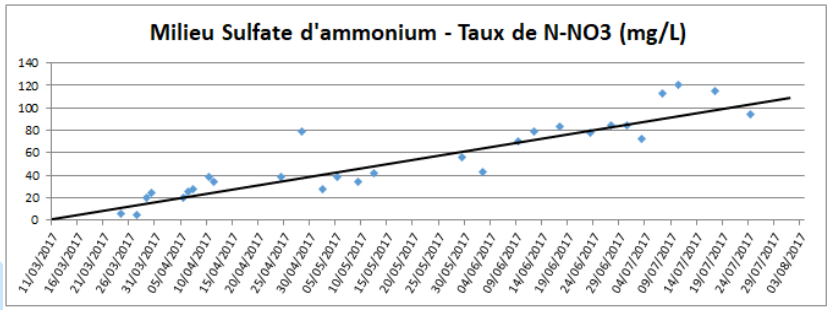
Mesures prises à 10H du matin, *avant* ajouts intrants ammoniacaux

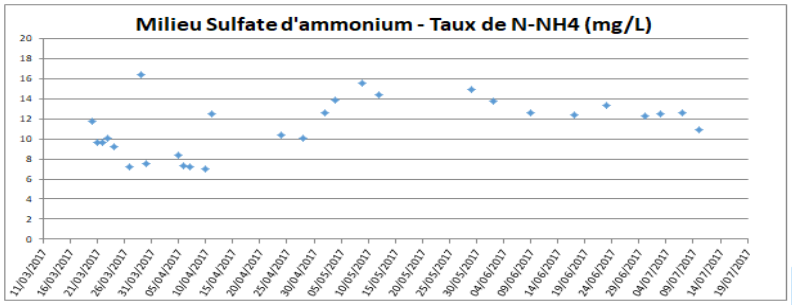






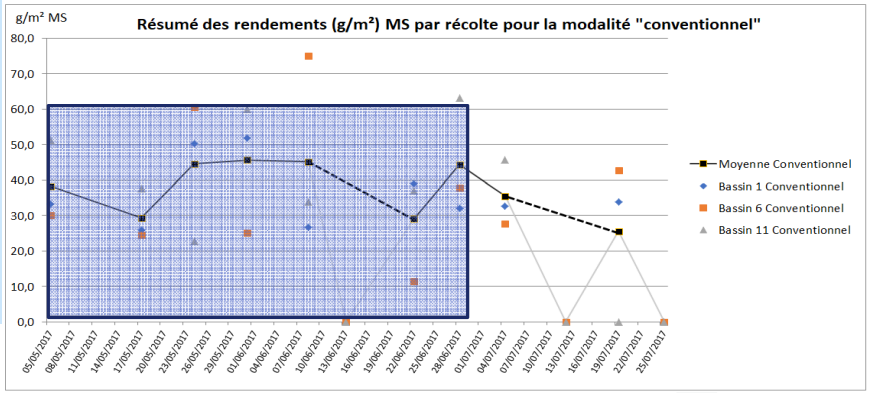


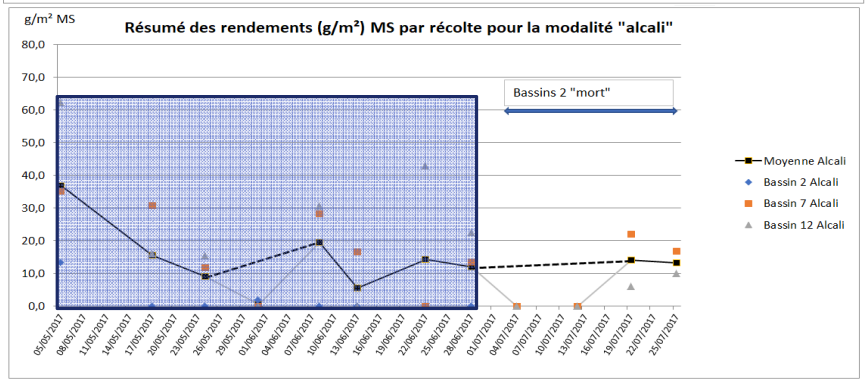


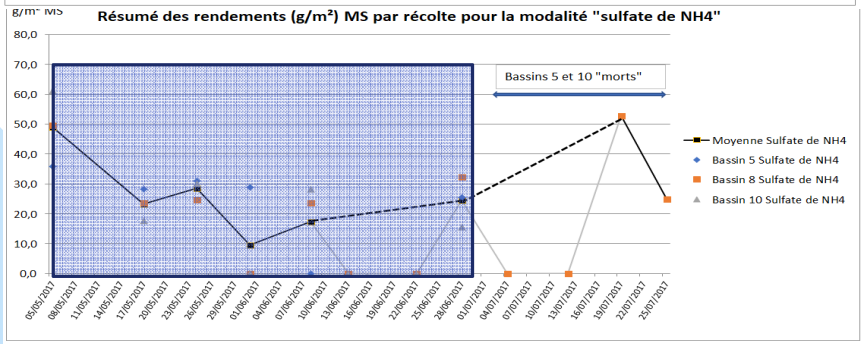


- Coexistence formes nitrates et ammoniac dans conventionnel + <u>baisse taux de N-NO3</u>
- Accumulation N-NO3 dans les modalités « ammoniac » et conservation N-NH4 <20 mg/L

Résultats de récoltes (raisonné sur la période du 05/05/17 au 30/06/17







- Meilleure performance des bassins conventionnels
- Rapide basse de régime des récoltes pour les modalités alcali et sulfate d'ammonium
- Mortalité de deux bassins « sulfate de NH4 » et d'un bassin « alcali » : pH élevé + T° élevée + Luminosité trop forte? Apports trop importants de N-NH4?

A droite, bassin 10 (sulfate d'ammonium) dégradé (photo prise début juillet)

A droite, bassin 2 (alcali) dégradé (photo prise début juillet)

Résultats de récoltes

	Résumé des résultats de croissance obtenus entre le 05/05/2017 et le 30/06/2017								
	Bassin 1	Bassin 6	Bassin 11	Bassin 2	Bassin 7	Bassin 12	Bassin 5	Bassin 8	Bassin 10
	Conventionnel			Alcali			Sulfate de NH4		
Somme biomasse sèche obtenue (g)	1206,0	1232,9	1423,5	70,4	633,2	879,8	697,5	715,3	712,3
Moyenne biomasse sèche obtenue (g)	1287,5			756,5			713,8		
Ecart type biomasse sèche obtenue (g)	118,6			174,4			9,5		
Productivité moyenne (g PS/jour/m²)	4,69			2,76			2,60		
Pourcentage de différence par rapport au témoin "conventionnel"	/			-41,24%			-44,56%		

Approche « bilan de masse »

	Milieu	Conventionnel	Alcali	Sulfate de NH4
Intrants	Apport d'azote dans le milieu (g)	500,56	829,83	829,55
	Spiruline apportée pour l'ensemencement (Secchi 3,5)	?	?	?
Extrants	Quantité d'azote fixée dans la spiruline récoltée (g) [hypothèse 65% de protéines, environ 16,5% d'azote dans les protéines]	138,08	81,13	76,56
	Quantité de N-NH4 milieu de culture à T-Final (g)	12,90	12,00	12,30
	Taux de N-NO3 milieu de culture à T-Final (g)	170,30	85,64	84,40
	Taux de N-NO2 milieu de culture à T-Final (g)	0,19	0,07	0,29
	Résidus de culture (g)	179,1	651,0	656,0
	Evacuation sous forme de gaz (g)			
	Spiruline résiduelle (Secchi 3,5)	?	?	?

	Milieu	Conventionnel	Alcali	Sulfate de NH4
Intrants	Apport d'azote dans le milieu (%)	100,00%	100,00%	100,00%
Extrants	Quantité d'azote fixée dans la spiruline récoltée (%)	27,59%	9,78%	9,23%
	Quantité de N-NH4 milieu de culture à T-Final (g)	2,58%	1,45%	1,48%
	Taux de N-NO3 milieu de culture à T-Final (g)	34,02%	10,32%	10,17%
	Taux de N-NO2 milieu de culture à T-Final (g)	0,04%	0,01%	0,04%
	Résidus de culture (%)	35,78%	78,45%	79,08%
	Evacuation sous forme de gaz (%)			

Focus sur le milieu Frayssinet

A gauche, bassin de production en conventionnel

A droite, bassin de production avec la modalité « Nutribio/Nutrikali »

- Coloration brune du milieu
- Forte odeur type « station d'épuration »
- Baisse du taux d'oxygène et du pH
- Productivité quasi nulle (1 kg de matière fraiche en 2 mois et demi) →Obtention de spiruline « verte »
- Présence de dépôts organiques importants (microbiologie?)

-Besoin d'un intrant organique liquide et incolore, exempt de source de potassium (mélasse)

-D'après bibliographie: surtout utilisé en complément d'intrants minéraux pour stimuler le caractère mixotrophe

Analyses cyanobactéries

	Conventionnel	Frayssinet	Alcali	Sulfate d'ammonium
	% biovolume	% biovolume	% biovolume	% biovolume
Arthrospira				
Arthrospira spiralée	98,8	99,5	94,7	99,1
Arthrospira droite	1,0	0,0	3,4	0,1
Autres cyanos				
Leptolyngbya	0,0	0,4	0,0	0,0
Pseudanabaena	0,0	0,0	0,3	0,0
Planktolyngbya				
Romeria	0,0	0,0	0,0	0,0
Jaaginema	0,0	0,1	1,3	0,7
Spirulina	0,0	0,0	0,0	0,0
Gomontiella	0,0	0,0	0,1	0,0
Cyanodictyon	0,1	0,0	0,1	0,0
Cyanobium	0,0	0,0	0,0	0,0
Merismopedia	0,0	0,0	0,0	0,0
Gloeocapsa	0,0	0,0	0,0	0,0
Rhabdogloea	0,0	0,0	0,0	0,0
Somme				
Arthrospira	**99,8**	**99,5**	**98,2**	**99,2**
Autres cyanos	**0,2**	**0,5**	**1,8**	**0,8**

	Conventionnel	Frayssinet	Alcali	Sulfate d'ammonium
	% colonies	% colonies	% colonies	% colonies
Arthrospira				
Arthrospira spiralée	27,0	29,4	4,3	4,4
Arthrospira droite	1,4	0,0	0,6	0,0
Autres cyanos				
Leptolyngbya	0,1	1,0	0,0	0,0
Pseudanabaena	3,9	3,9	9,9	0,6
Planktolyngbya				
Romeria	21,2	0,0	0,0	0,0
Jaaginema	15,4	41,2	76,4	86,1
Spirulina	0,1	3,9	1,2	0,6
Gomontiella	1,9	0,0	3,1	1,9
Cyanodictyon	28,9	3,9	4,3	1,9
Cyanobium	0,0	15,7	0,0	4,4
Merismopedia	0,0	0,0	0,0	0,0
Gloeocapsa	0,1	1,0	0,0	0,0
Rhabdogloea	0,0	0,0	0,0	0,0
Somme				
Arthrospira	**28,4**	**29,4**	**5,0**	**4,4**
Autres cyanos	**71,6**	**70,6**	**95,0**	**95,6**

Autres tests menés à petite échelle: (aquariums de 20L)

→*Test N°1 :* test d'apport de Nutrikali en fractionné (15 mg/L/jour et 30 mg/L/jour)

→Milieu Nutrikali 30 mg/L plus performant que le milieu Nutrikali 15 mg/L et le milieu conventionnel ; mais coloration progressive du milieu de culture et impact pH et taux d'oxygène nocturne ; à confirmer à grande échelle

→*Test N°2 :* : test d'apport d'alcali à 18 mg/L et 9 mg/L d'azote ammoniacal total, en batch (apport journalier en une fois) et en fractionné (apport journalier divisé en deux fois)

→Rendement équivalent à 18 mg/L ou à 9 mg/L d'azote ammoniacal total, et ce quelle que soit la modalité d'apport.

Perspectives: essai alcali « goutte à goutte » en cours

10 mg/L/jour de N-NH4, apportés en une fois à 10H du matin, ou apporté en goutte à goutte de 9H à 19H

	Résumé des résultats de croissance obtenus entre le 03/10/2017 et le 10/11/2017								
	Bassin 2	Bassin 6	Bassin 11	Bassin 5	Bassin 10	Bassin 12	Bassin 4	Bassin 7	Bassin 8
	Conventionnel			Alcali batch			Alcali GAG		
Somme biomasse sèche obtenue (g)	624,4	700,1	858,6	354,0	650,2	836,6	0,0	648,2	701,2
Moyenne biomasse sèche obtenue (g)	727,7			613,6			674,7		
Ecart type biomasse sèche obtenue (g)	119,5			131,8			37,5		
Productivité moyenne (g PS/jour/m²)	2,47			2,08			2,29		
Pourcentage de différence par rapport au témoin "conventionnel"	/			-15,67%			-7,28%		

Perspectives: essai alcali « goutte à goutte », analyses bactério

Modalité conventionnel

Paramètres recherchés	Méthodes	Unités	Critères	Résultats	S/conclusion
Micro-organismes aérobies à 30°C	XP V08-034*	UFC/g	100 000	38000	CH Satisfaisant
Coliformes thermotolérants à 44°C	NF V08-060*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Anaérobie Sulfito-réducteur 46°C	NF V 08-061 Boite*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Clostridium perfringens	NF EN ISO 7937*	UFC/g	10	<5	CS Satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	NF V08-057-1/Méthode spirale*	UFC/g	100	<100	CS Satisfaisant
Salmonella	BKR 23/07-10/11*	/25g	Absence	Non détecté	CS Satisfaisant
Listeria monocytogenes	AES 10/05-09/06*	UFC/g	100	<10	CS Satisfaisant

Modalité alcali « batch »

Paramètres recherchés	Méthodes	Unités	Critères	Résultats	S/conclusion
Micro-organismes aérobies à 30°C	XP V08-034*	UFC/g	100 000	36000	CH Satisfaisant
Coliformes thermotolérants à 44°C	NF V08-060*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Anaérobie Sulfito-réducteur 46°C	NF V 08-061 Boite*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Clostridium perfringens	NF EN ISO 7937*	UFC/g	10	<5	CS Satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	NF V08-057-1/Méthode spirale*	UFC/g	100	<100	CS Satisfaisant
Salmonella	BKR 23/07-10/11*	/25g	Absence	Non détecté	CS Satisfaisant
Listeria monocytogenes	AES 10/05-09/06*	UFC/g	100	<10	CS Satisfaisant

Modalité alcali « goutte à goutte »

Paramètres recherchés	Méthodes	Unités	Critères	Résultats	S/conclusion
Micro-organismes aérobies à 30°C	XP V08-034*	UFC/g	100 000	17000	CH Satisfaisant
Coliformes thermotolérants à 44°C	NF V08-060*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Anaérobie Sulfito-réducteur 46°C	NF V 08-061 Boite*	UFC/g	100	<10	CH Satisfaisant
Clostridium perfringens	NF EN ISO 7937*	UFC/g	10	<5	CS Satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	NF V08-057-1/Méthode spirale*	UFC/g	100	<100	CS Satisfaisant
Salmonella	BKR 23/07-10/11*	/25g	Absence	Non détecté	CS Satisfaisant
Listeria monocytogenes	AES 10/05-09/06*	UFC/g	100	<10	CS Satisfaisant

Analyses menées sur spiruline fraiche

Conclusions* :	Qualité microbiologique satisfaisante

Perspectives

Printemps 2018 : tests sur intrants organiques en aquarium puis dans des bassins de 1000L en sélectionnant le meilleur intrant.

-Fournisseur N°1 (confidentiel) : mix produit N°1 [40 g/L de N total+ 23 g/L de MgO + 46 g/L de SO_3] et produit N°2 [25 g/L de N total et 88 g/L de P_20_5] → apport N et P uniquement, apport de K avec sulfate de potasse.

-Fournisseur N°2 (confidentiel) : 33g/L de N total, 10 g/L de P_20_5, 20 g/L de K_20 → Apport équilibré NPK + complément K avec sulfate de potasse.

+ tests complémentaires alcali / sulfate d'ammonium ? / acide phosphorique

Observations microscope

Milieu alcali

Milieu sulfate d'ammonium

Milieu conventionnel

Milieu Frayssinet

La production de spiruline « bio », bientôt une réalité?

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

ACTION CASDAR: « ALIMENTATION AZOTEE ET PHOSPHOREE DE LA SPIRULINE / Labellisation biologique»

Pierre Foucard - Journée FSF - Mardi 20 novembre 2018 - Mejannes le Clap

Modalités expérimentales : test N°1

Durée de l'étude:
90 jours, du 26/04/2018 au 26/07/2018

Paramètres de culture:
Souche: Paracas
pH visé: 9,5 à 10,5
Température visée: 22°C →40°C
Source d'eau: réseau eau potable
Débit de brassage: 6 m^3/h en séquentiel

Rapport de stage, Vincent Moens

Université de La Rochelle
Pôle sciences, Avenue Michel Crépeau, 17000 LA ROCHELLE

Mémoire de fin d'étude
Pour l'obtention du diplôme de

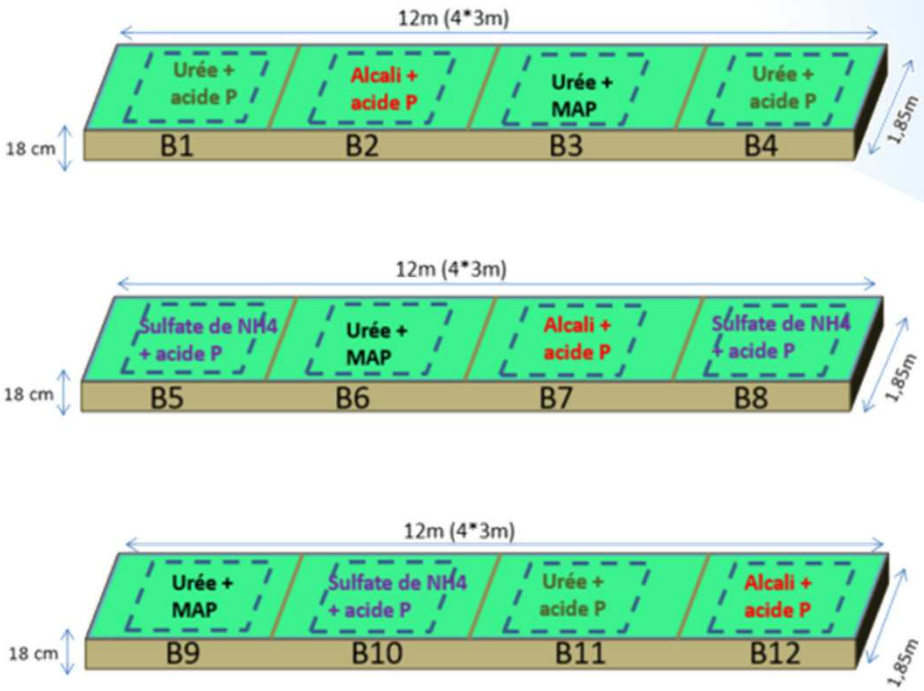
Licence Professionnelle
« Aquaculture et Gestion Durable de son Environnement »

Mise au point et tests d'intrant innovant en culture de spiruline (*Arthrospira Platensis*)

Arthrospira Platensis, souche Paracas (photo personnelle)

MOENS Vincent

Etude réalisée par ITAVI (Institut Techniques des filières avicole, cunicole et aquacole)
Adresse : 7 rue du faubourg poissonnière 75009 PARIS
Tel : 09.51.36.10.60
Email : toequeville@itavi.asso.fr
Site internet : www.itavi.asso.fr
Sous la responsabilité de : TOCQUEVILLE Aurélien et FOUCARD Pierre, ITAVI



12 bassins de 5,5m², soit environ 66m² de surface
Chaque bassin contient 1000L de milieu de culture

4 modalités testées → **3 répétitions** → **Distribution randomisée**

Méthode de récolte et de séchage:

- **Taux de siccité après phase de presse:** ±25%
- **Température et durée de séchage:** 45°C / 6H (déshydratateur alimentaire)

Présentation des intrants « bio »: test N°1

Sources d'azote « bio »:

« Alcali »: valorisation Azote ammoniacal usines de compostages

« Sulfate d'ammonium »: valorisation Azote ammoniacal boues de méthanisation

Source de phosphore « bio »:

« Extrait acide de laminaire »: entreprise Agrimer, acide phosphorique extrait d'algues brunes

Source de potassium « bio »:

Sulfate de potasse

Formulation des milieux: test N°1

Intrants	Modalité	M1	M2	M3	M4
		Témoin conventionnel: Milieu Urée + MAP	Témoin Pbio: Milieu Urée + Acide P	Modalité bio 1: Alcali + Acide P	Modalité bio 2: Sulfate d'ammonium + Acide P
Apport d'azote journalier	**Apports exprimés en unité de volume ou de poids/1000L de milieu de culture**				
Urée	CH_4N_2O	Equivalent 10 mg N/L/jour = 22 g urée/jour		/	
Alcali (Alcion)	NH_4OH	/		Equivalent 10 mg N-NH4/L/jour = 65 mL d'alcali/jour	/
Sulfate d'ammonium (Suez)	$(NH_4)_2SO_4$	/			Equivalent 10 mg N-NH4/L/jour = 82 mL de sulfNH4i/jour
Composition milieu de base	**Apports exprimés en unité de volume ou de poids/1000L de milieu de culture**				
Bicarbonate de sodium	$NaHCO_3$	8000 g			
Chlorure de sodium	NaCl	4000 g			
Nitrate de potassium	KNO_3	2000 g			
Sulfate de potassium	K_2SO_4	/		1720 g	
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	200 g			
Phosphate mono-ammoniaque	$NH_4H_2PO_4$	200 g	/		
Acide phosphorique (laminaire)	P_2O_5	/	180 mL		
Sulfate de fer (10 g/L)	$FeSO_4$	100 ml			
Oligo 7	Mix d'oligo	10ml			
Milieu de récolte (compensation)	**Apports exprimés en unité de volume ou de poids/kg de poids sec de spiruline**				
Bicarbonate de sodium	$NaHCO_3$	3000 g			
Sulfate de potassium	K_2SO_4	40 g			
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	30 g			
Phosphate mono-ammoniaque	$NH_4H_2PO_4$	60 g	/		
Acide phosphorique (laminaire)	P_2O_5	/	55 mL		
Sulfate de fer (10 g/L)	$FeSO_4$	50 ml			
Oligo 7	Mix d'oligo	10ml			

Paramètres de suivi physico chimique

Paramètre mesuré	Unité	Fréquence
T° eau	°C	En continu ou journalier (matin)
T° serre	°C	En continu
pH	/	Journalier (matin)
O2	ppm	
Conductivité	mS/cm	Hebdomadaire
NH4/NO3/NO2	mg/L	1 à 2 * par semaine / Batch de triplicatas pour toutes les modalités
PAR dans la serre	W/m²	En continu
Secchi	cm	Journalier (matin)
Turbidité	NTU	Journalier (matin)

Paramètres de suivi agronomique, nutritionnel et sanitaire

Paramètre mesuré	Unité	Fréquence	Méthode
Quantités récoltées poids humide	kg	A chaque récolte	Balance de précision (0,1g près)
Quantités récoltées poids sec	kg		Séchage échantillon 100g puis mesure balance (0,1g près)
Taux de siccité	%MS		(Poids sec/poids humide)*100
Observation microscopique/nbre spires/morphologie + photo	/	Deux fois par mois	Microscope RATHO
Dénombrement cyanobactéries + micro cystines sur spiruline sèche	/	Analyses à TFinal (pool de 3 répétitions par modalité)	Prélèvement et envoi à Limnologie Sarl
Analyses bactério sur spiruline sèche	/	Analyses à TFinal (pool de 3 répétitions par modalité)	Laboratoire AQMC
Analyses nutritionnelles sur spiruline sèche	/	Analyses à TFinal (pool de 3 répétitions par modalité)	Laboratoire AQMC

Méthode d'évaluation du bilan azote

Evaluation masse N apporté par les intrants du système sur l'ensemble de la culture:

- **N contenu dans:**
- Spiruline apportée à l'ensemencement
- Eau neuve composant milieu de base + compensation évaporation de l'eau
- Intrants azotés apportés dans le milieu initial et tout au long du cycle de production

Evaluation masse N retrouvé dans les extrants du système:

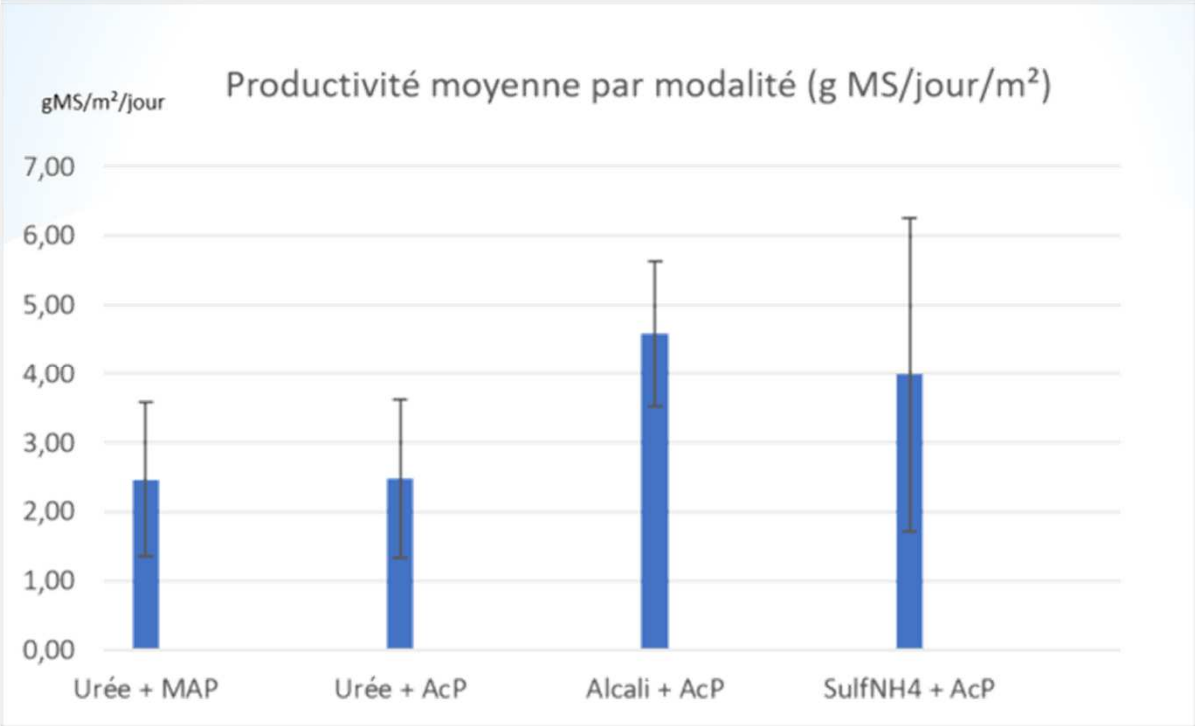
- **N contenu dans:**
- Spiruline récoltée tout au long de la période de tests
- Spiruline résiduelle dans le milieu (filtration de l'ensemble du volume du bassin)
- Milieu de culture résiduel (mesures des formes de N organique et N minéral après brassage et mise en suspension des particules accumulées dans le fond des bassins)

Trois conclusions possibles:

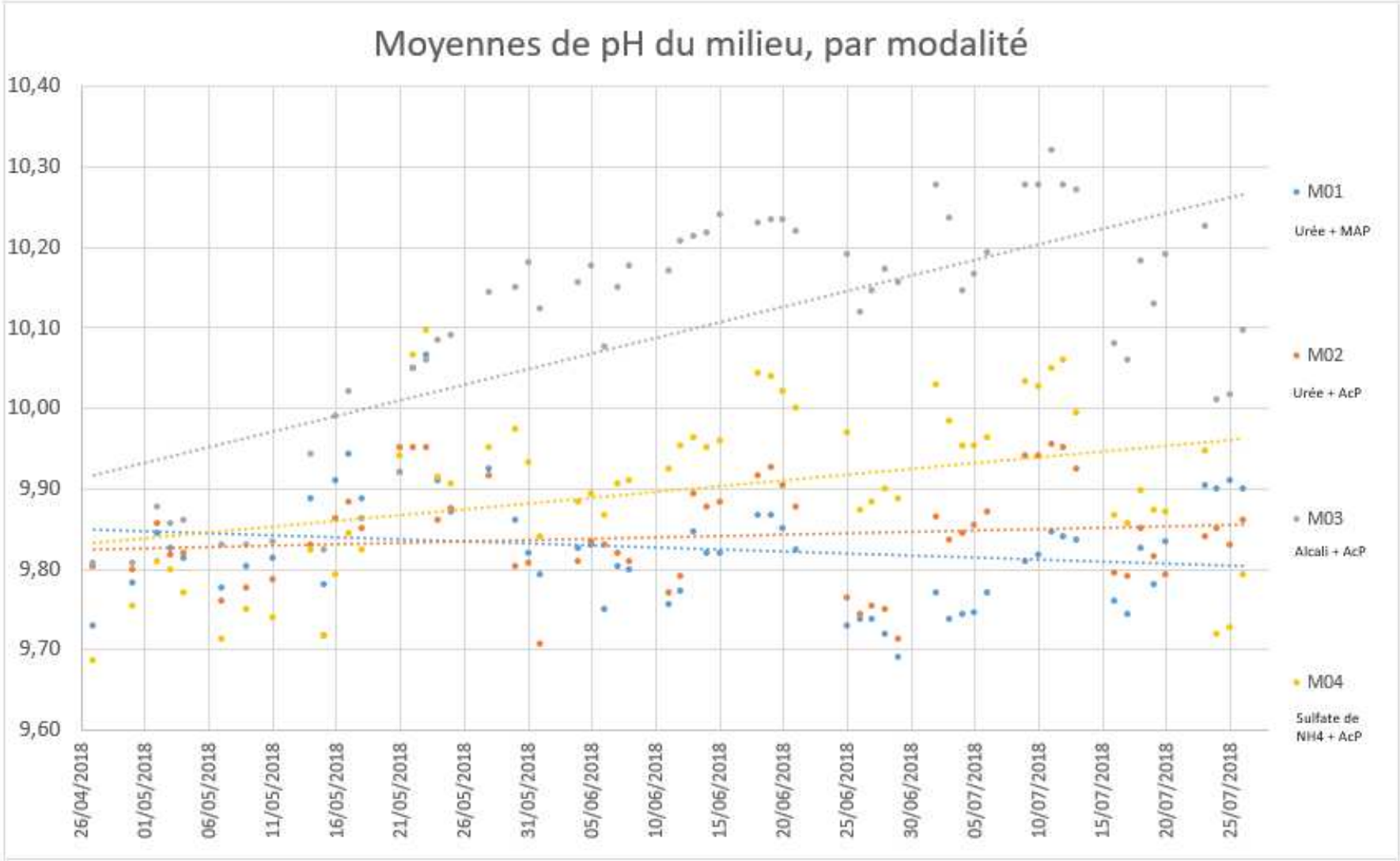
Si le bilan est équilibré, la relocalisation du N venant des intrants est identifiée

Si le bilan est déséquilibré, deux solutions selon le sens du déséquilibre:
-Perte d'azote: N évacué sous forme gazeuse
-Gain d'azote: N récupéré dans l'atmosphère et stocké dans le milieu de culture

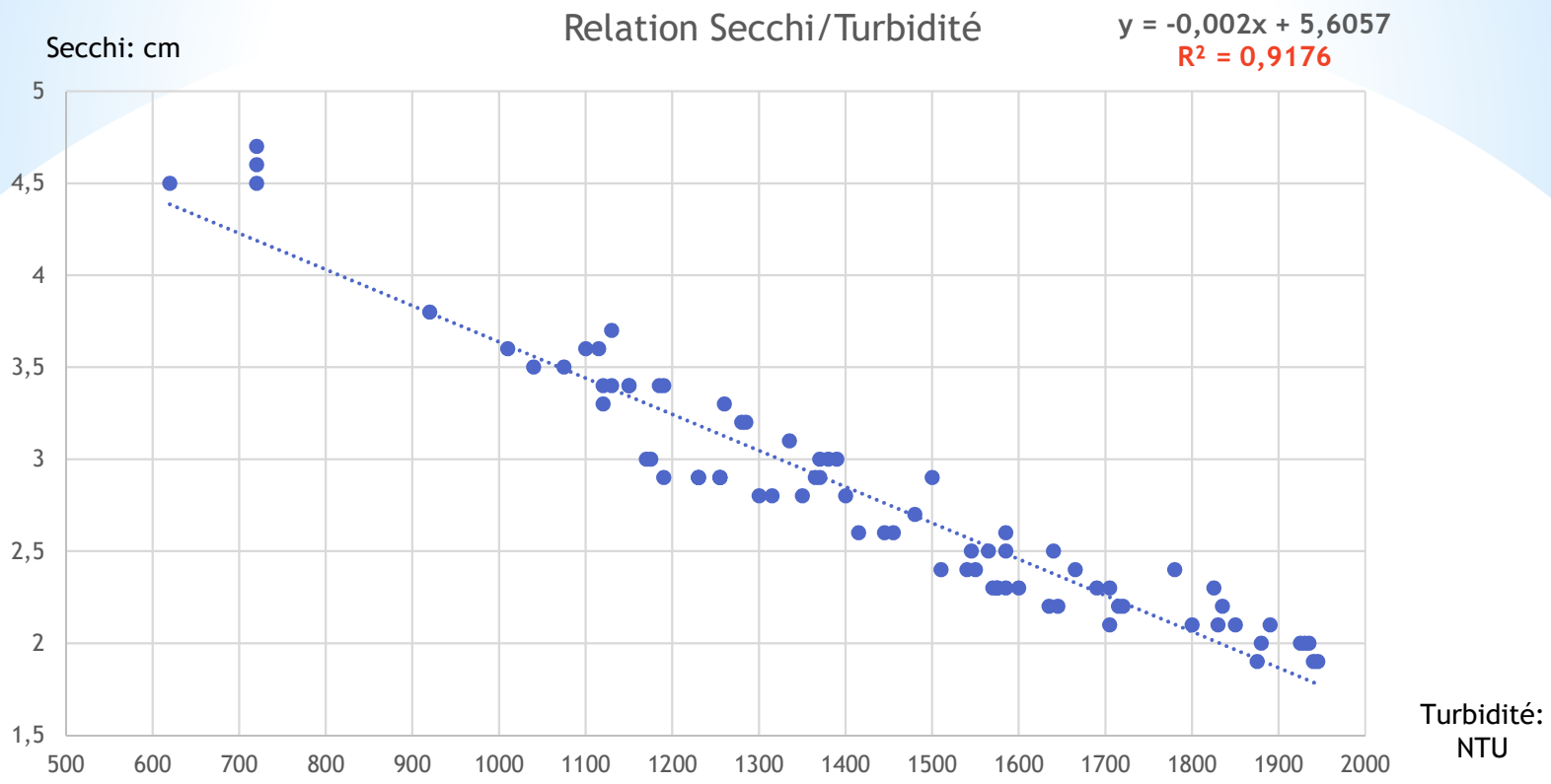
Résultats de rendement test N°1



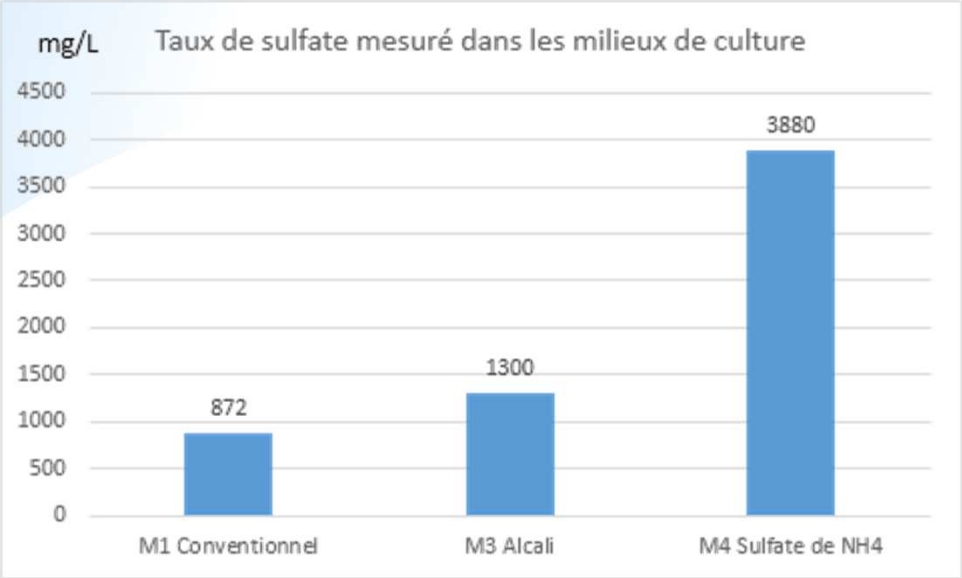
Pourcentage de différence de rendement par rapport au témoin conventionnel M1 (=Urée 10mgN/L/jour + MAP)		
M2	M3	M4
Urée + Acide P	Alcali + Acide P	Sulfate de NH4 + Acide P
+0,4%	+85,51%	+61,15%


Moyennes de pH du milieu, par modalité
10,40
10,30
10,20
10,10
10,00
9,90
9,80
9,70
9,60
26/04/2018
01/05/2018
06/05/2018
11/05/2018
16/05/2018
21/05/2018
26/05/2018
31/05/2018
05/06/2018
10/06/2018
15/06/2018
20/06/2018
25/06/2018
30/06/2018
05/07/2018
10/07/2018
15/07/2018
20/07/2018
25/07/2018
M01
Urée + MAP
M02
Urée + AcP
M03
Alcali + AcP
M04
Sulfate de NH4 + AcP

Méthode d'évaluation de la croissance de la spiruline



Taux de sulfate milieu de culture



→Risque pour accumulation bactéries sulfito réductrices?

→Risque de déséquilibre milieu de culture? (formation de CaSO4 / biblio hydroponie)

	Origine sulfate selon les milieux		
Intrants sulfatés	**M1 et M2**	**M3**	**M4**
Sulfate de potasse	Milieu de récolte	Milieu de base ET milieu de récolte	Milieu de base ET milieu de récolte
Sulfate de magnésie	Milieu de base ET milieu de récolte		
Sulfate de fer			
Sulfate de NH4	/	/	

Résultats analyses sanitaires et nutritionnelles

→Réalisées sur spiruline sèche, batch triplicats / modalité

			Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP	
Paramètres recherché	**Unités**	**Critères**	**Résultats**					
Micro organismes aérobies 30°C	UFC/g	100000	3000	CH satisfaisant	12000	CH satisfaisant	3000	CH satisfaisant
Coliformes thérmotolérants 44°°C	UFC/g	100	180	CH acceptable	<10	CH satisfaisant	200	CH acceptable
Anaérobie sulfito réducteurs 46°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant
Clostridium perfringens	UFC/g	10	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	UFC/g	100	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant
Salmonella	/25g	Absence	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant
Listeria monocytogènes	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant

	Laboratoire	Unité	Urée + MAP	Alcali + AcP	SulfateNH4 + AcP
Sodium	AQMC	mg/100g	1359,0	1539,0	1346,0
Fer	AQMC	mg/100g	58,4	57,4	43,2
Protéines	AQMC	g/100g	61,8	58,5	63,0
Béta-carotène	AQMC	mg/100g	128,0	103,0	141,0
Phycocyanines brutes	AQMC	g/100g	20,1	22,2	23,2
C-Phycocyanine	AQMC	g/100g	11,0	12,1	12,7
Sulfites (Méthode enzymatique)	AQMC	mg/kg	400,0	359,0	668,0
			140,0	72,0	535,0
			105,0	261,0	433,0
		Moyenne	215,0	230,7	545,3
		Ecart Type	161,2	145,9	117,8
Sulfites (Méthode Monnier Williams)	Eurofins	mg/kg	13,0	21,0	9,0
			24,0	19,0	11,0
			23,0	13,0	16,0
		Moyenne	20,0	17,7	12,0
		Ecart Type	6,1	4,2	3,6

Modalité sulfate NH4 supérieure en termes de taux de phycocyanine, bétacarotène, protéines… mais inférieure en terme de taux de fer

Valeurs aberrantes au regard de la bibliographie

Valeurs cohérentes, mais > 10 mg/L

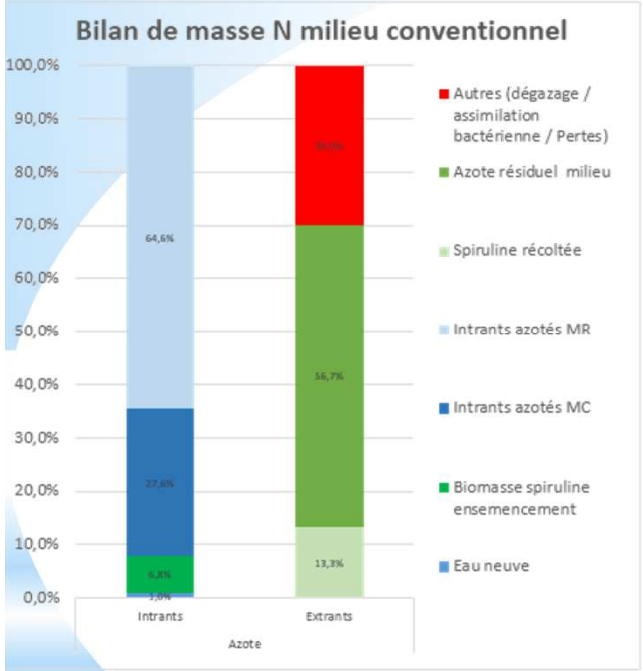
Résultats analyses cyano / microcystines

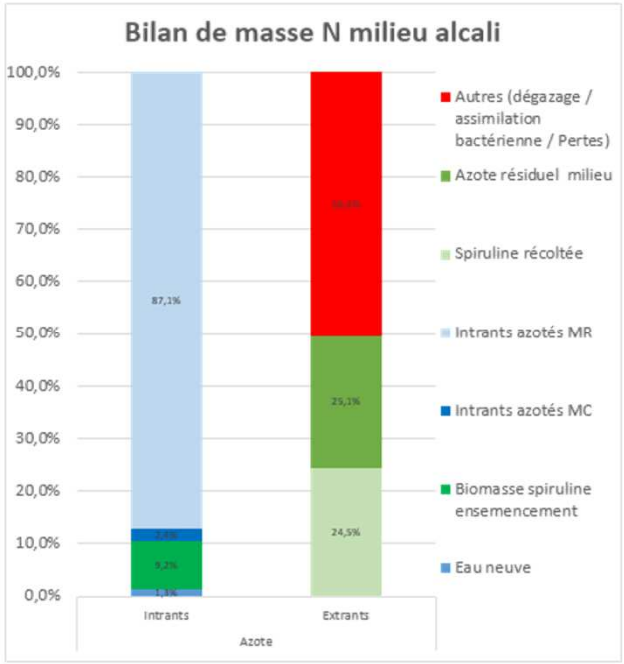
→Réalisées sur batch triplicats/modalité

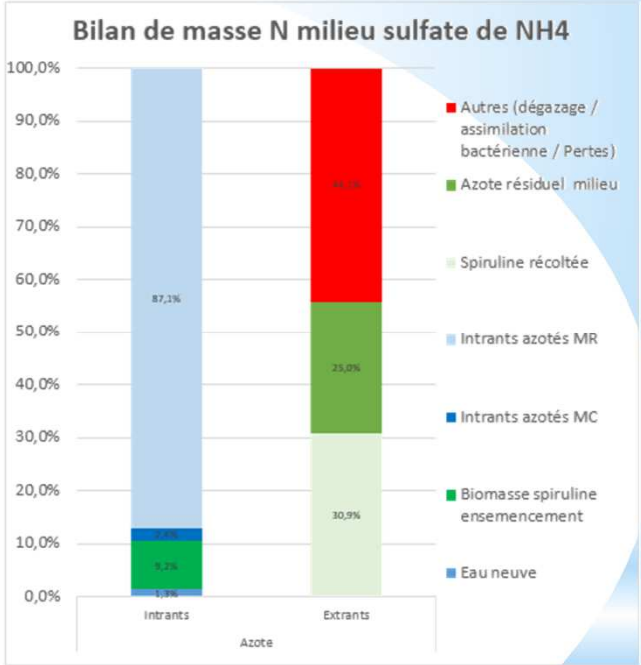
	Milieux de culture 18/07/2018					
	Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP	
	% colonies	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*
Total Arthrospira	**2,0**	**93,5**	**5,5**	**97**	**4,1**	**96,6**
Arthrospira ondulée	1,7	43,4	5	45,1	3,5	43,1
Arthrospira droite	0,2	39,7	0,5	51,4	0,6	52
Arthrospira spiralée	0,2	10,5	0	0,6	0,1	1,6
Autres cyanobactéries	**98,0**	**6,5**	**94,5**	**3**	**95,9**	**3,4**
Autres embranchements	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Microcystines (eq-LR, µg/litre)	0,25		0,35		0,19	

	Paillettes 18/07/2018					
	Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP	
	% colonies	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*
Total Arthrospira	**46,4**	**99,6**	**52,7**	**99,9**	**48,4**	**99,9**
Arthrospira ondulée	37,8	51,2	50,3	60,8	27,1	6,7
Arthrospira droite	3,4	29,3	2,2	38,4	15,5	90,5
Arthrospira spiralée	5,2	19,2	0,2	0,8	5,8	2,6
Autres cyanobactéries	**53,6**	**0,4**	**47,3**	**<0,1**	**51,6**	**0,1**
Autres embranchements	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Microcystines (eq-LR, µg/gramme)	0,35		0,38		0,36	

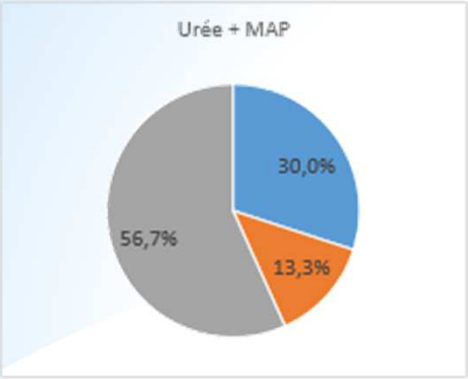
Résultats bilan de masse N (réalisés sur un bassin par modalité)

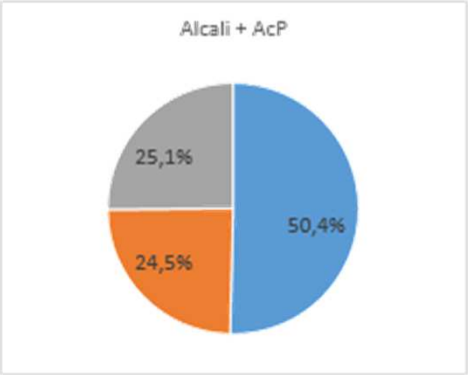


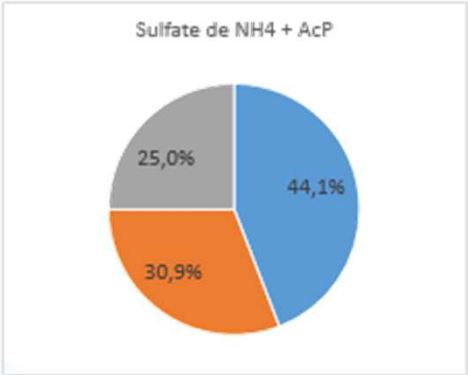




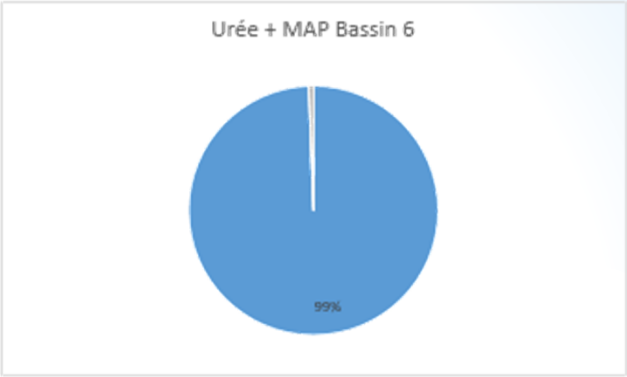
Résultats bilan de masse N

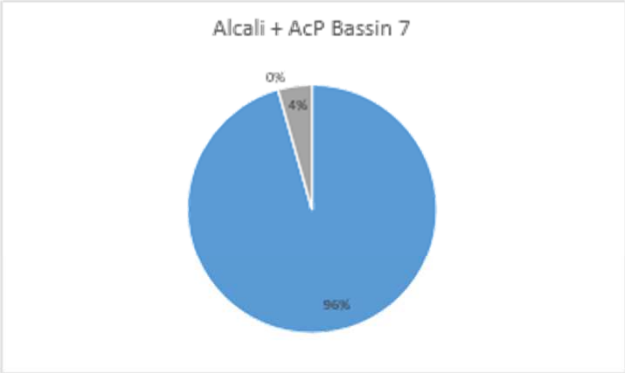


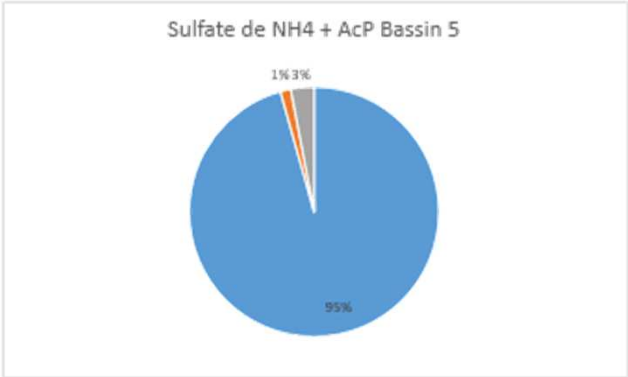




- Part évaporation N (%)
- Part N fixée dans la spiruline (%)
- Part N résiduel dans le milieu (%)







- Part N-NO3 dans azote résiduel du milieu (%)
- Part N-NO2 dans azote résiduel du milieu (%)
- Part N Kjeldahl (N-NH4 + azote organique) dans azote résiduel du milieu (%)

Modalités expérimentales: test N°2, intrant organique

Durée de l'étude:
43 jours, du 02/08/2018 au 13/09/2018

Paramètres de culture:
Souche: Lonar
pH visé: 9,5 à 10,5
Température visée: 22°C →30°C
Source d'eau: réseau eau potable
Débit de brassage: 6 m^3/h en séquentiel

4 modalités testées → **Pas de répétition**

- **M1-** Témoin N et P conventionnel
- **M2-** Témoin N et P bio (sulfate NH4 et acide P)
- **M3-** Modalité N organique (Isotonic B)
- **M4-** Modalité « mix bio / organique », sulfate de NH4 ET Isotonic B

Présentation des intrants « bio » organiques: test N°2

Source de NPK organique:

Isotonic B: entreprise BIO3G, à base de jus et crème d'algues, coquilles marines calcaires, substances végétales, extraits de plantes, bactéries telluriques, acides aminés. N,P2O5,K2O (3%*, 2%**, 2%***) + 0,007% de fer

Source de phosphore bio:

« Extrait acide de laminaire

Source de potassium bio:

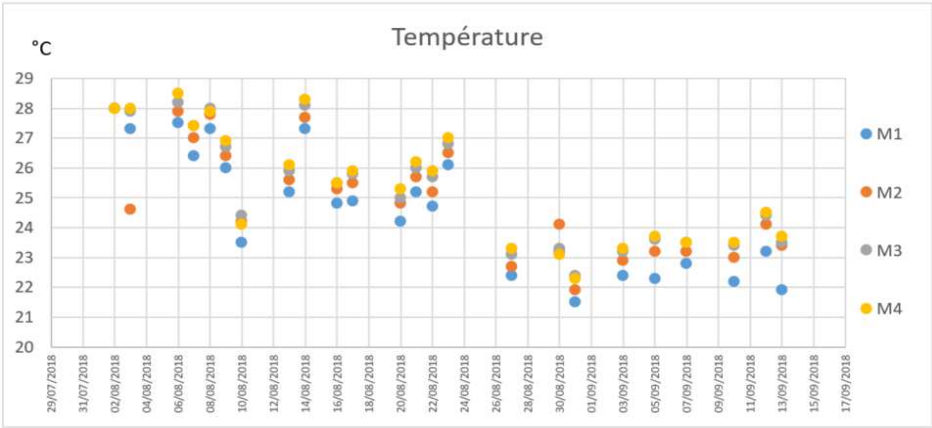
Sulfate de potasse

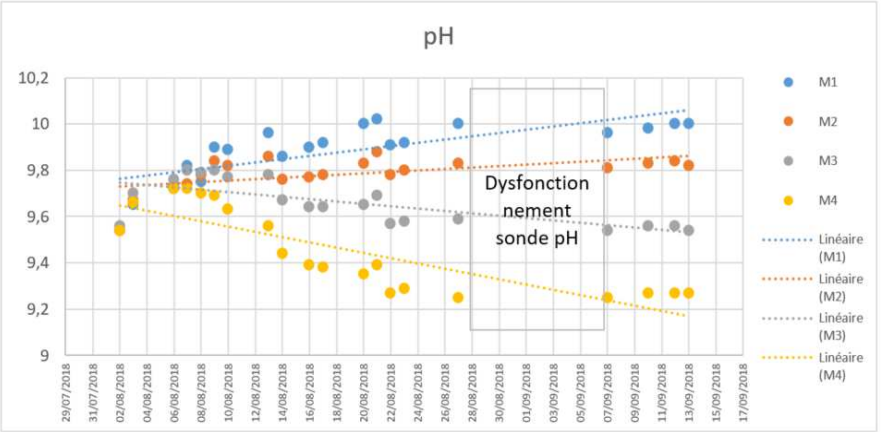
Formulation des milieux: test N°2

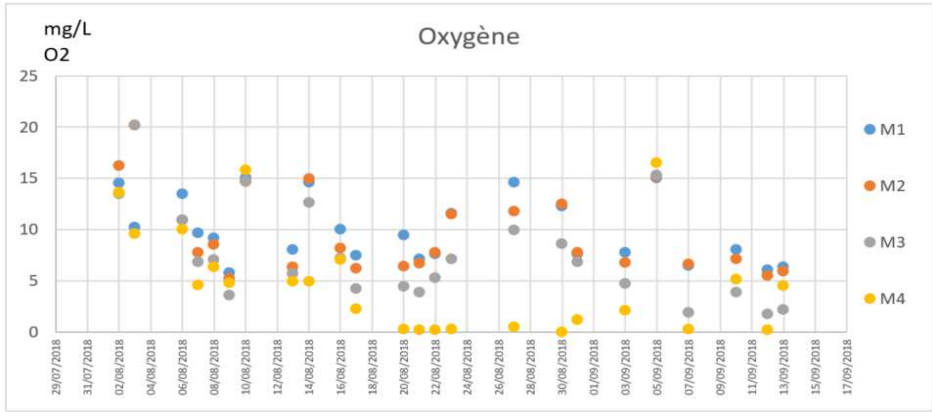
Intrants	Modalité	M1	M2	M3	M4
		Témoin conventionnel: Milieu Urée + MAP	Modalité bio: sulfate d'ammonium + Acide P	Modalité bio: Isotonic fractionné	Modalité bio: Modalité M3 + Modalité M4
Apport d'azote journalier	Apports exprimés en unité de volume ou de poids/1000L de milieu de culture				
Sulfate d'ammonium (Suez)	$(NH_4)_2SO_4$	/	Equivalent 10 mg N-NH4/L/jour = 82 mL de sulfNH4/jour	/	Equivalent 10 mg N-NH4/L/jour = 82 mL de sulfNH4/jour
Isotonic	N,P205, K20		/	Equivalent 10 mg N/L/jour = 305 mL isotonic/jour	
Composition milieu de base	Apports exprimés en unité de volume ou de poids/1000L de milieu de culture				
Bicarbonate de sodium	$NaHCO_3$	8000 g			
Chlorure de sodium	NaCl	4000 g			
Nitrate de potassium	KNO_3	2000 g	/		
Sulfate de potassium	K_2SO_4	/	1720 g		
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	200 g			
Urée	CH_4N_2O	20g	/		
Phosphate mono-ammoniaque	$NH_4H_2PO_4$	200 g	/		
Acide phosphorique (laminaire)	P_2O_5	/	180 mL		
Sulfate de fer (10 g/L)	$FeSO_4$	100 ml			
Oligo 7	Mix d'oligo	10ml			
Milieu de récolte (compensation)	Apports exprimés en unité de volume ou de poids/kg de poids sec de spiruline				
Bicarbonate de sodium	$NaHCO_3$	3000 g			
Sulfate de potassium	K_2SO_4	40 g			
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	30 g			
Phosphate mono-ammoniaque	$NH_4H_2PO_4$	60 g	/		
Acide phosphorique (laminaire)	P_2O_5	/	55 mL		
Urée	CH_4N_2O	300 g	/		
Sulfate de fer (10 g/L)	$FeSO_4$	100 ml			
Oligo 7	Mix d'oligo	10ml			

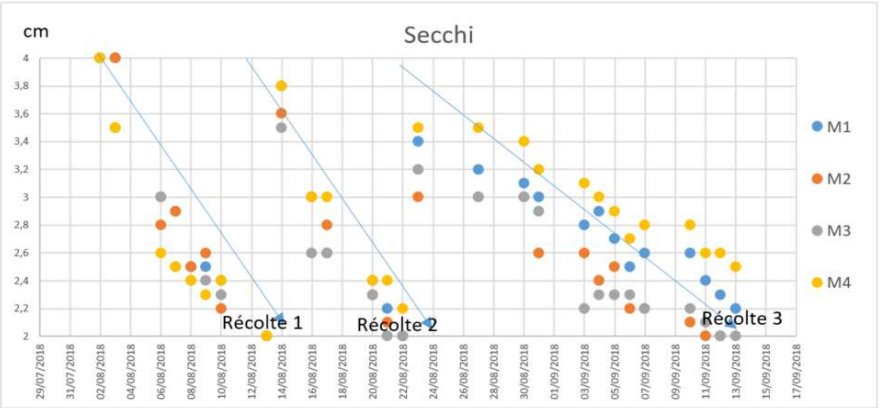
Matériel et méthodes: test bio N°2, azote organique

Evolution paramètres de suivi culture:

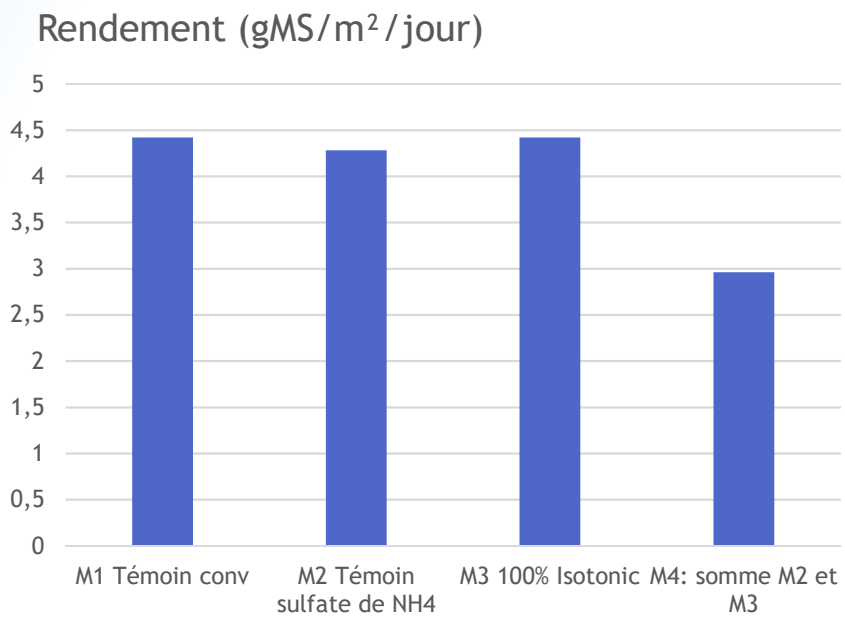








Résultats de rendement test N°2



→ Rendements M1 = M2 = M3
→ Le « témoin sulfate de NH4 » fractionné a des performances similaires au témoin conventionnel batch
→ Le « témoin conventionnel batch » semble meilleur que le « conventionnel fractionné » (si l'on compare les résultats par rapport au premier essai)
→ La modalité « organique Isotonic fractionné » donne des résultats identiques à M1 et M2
→ La modalité « organique Isotonic + Sulfate de NH4 fractionnés » donne de moins bons résultats: accumulation de N-NH4, présence d'activité bactérienne qui dégrade le N organique de l'intrant Isotonic en N-NH4 (ammonification).

Résultats analyses sanitaires et nutritionnelles

(réalisées sur spiruline sèche, batch de 4 récoltes)

			Intrant Isotonic	
Paramètres recherché	**Unités**	**Critères**	**Résultats**	
Micro organismes aérobies 30°C	UFC/g	100000	5000	CH satisfaisant
Coliformes thérmotolérants 44°°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant
Anaérobie sulfito réducteurs 46°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant
Clostridium perfringens	UFC/g	10	<5	CH satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	UFC/g	100	<100	CH satisfaisant
Salmonella	/25g	Absence	ND	CH satisfaisant
Listeria monocytogènes	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant

Spiruline récoltée de fin août à mi octobre

	Laboratoire	Unité	Urée + MAP
Protéines	AQMC	g/100g	64,7
Béta-carotène	AQMC	mg/100g	121,0
Phycocyanines brutes	AQMC	g/100g	20,9
C-Phycocyanine	AQMC	g/100g	11,4

Résultats proches des autres modalités testées durant l'été

Autres remarques:

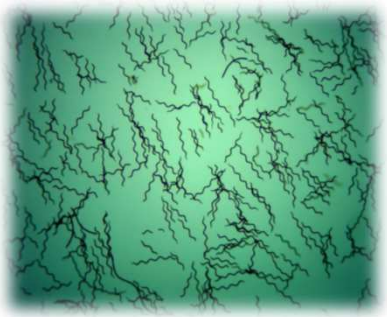
→ Davantage de dépôts en organique, au départ

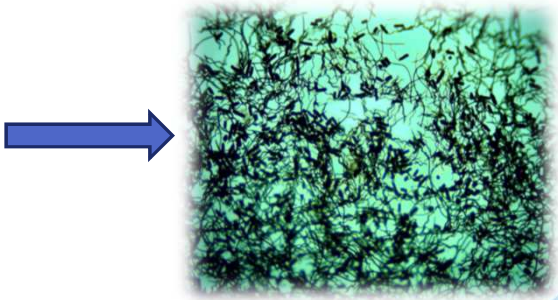
→ Pas d'accumulation de molécules responsables de la turbidité du produit

→ Tendance à la baisse de pH dans la modalité organique / réaction de transformation C_{org} en CO_2?

CONCLUSIONS tests bio

→ Productivité « bio » meilleure que la modalité conventionnelle témoin sur les tests 2018
→ Pas d'effet de la source de phosphore sur le rendement
→ Problématique sulfites: besoin d'étiquettage
→ Paracas progressivement transformées en Lonar courant août… cause stress?





CONCLUSIONS tests bio

Comparaison rendement avec tests 2017

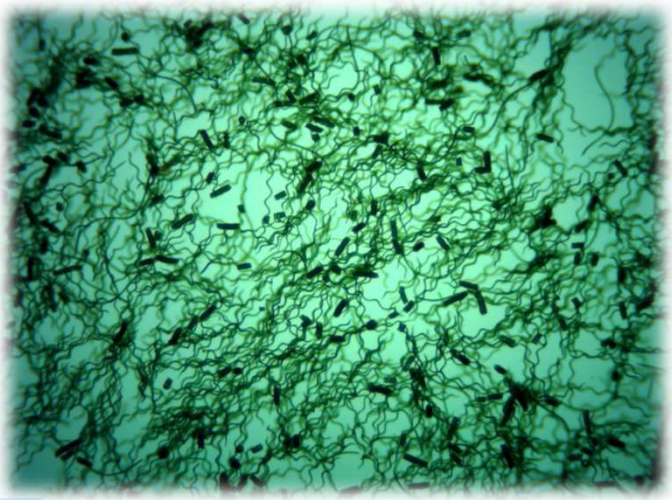
	MAP	Acide P	MAP	Acide P	MAP	Acide P	(Source de P)
Modalité d'apport du N	**Urée**		**Alcali**		**Sulfate de NH4**		(Source de N)
Apport de N en fonction du poids sec récolté (300g urée/kg)	4,36 (±0,40)	/	/	/	/	/	Résultats RATHO 2017
Apport journalier 20 mg/L de N-NH4	/	/	2,56 (±1,41)	/	2,42 (±0,03)	/	
Apport journalier 10 mg/L de N-NH4)	2,47 (±1,12)	2,48 (±1,14)	/	4,58 (±1,05)	/	3,98 (±2,27)	Résultats RATHO 2018

→ Modalité « conventionnel » 2018 moins performante que sur 2017 (différente méthode d'apport de l'urée)

→ Productivité bio 2018 similaire à productivité conventionnel 2017

CONCLUSIONS tests intrants organiques

→ Premiers tests avec milieu organique très encourageants
→ Pas de problématiques sanitaires à relever
→ Tendance à la baisse de pH (minéralisation MO)
→ Productivité milieu organique similaire à conventionnel et bio, à valider par test en triplicat



DIAPOS BONUS

Résultats de rendement test N°1: détail biomasses produites

	Bassin 3	Bassin 6	Bassin 9	Bassin 1	Bassin 4	Bassin 11	Bassin 2	Bassin 7	Bassin 12	Bassin 5	Bassin 8	Bassin 10
	Urée + MAP			Urée + AcP			Alcali + AcP			SulfNH4 + AcP		
Somme biomasse sèche obtenue par bassin (g)	1301,6	1120,0	471,9	595,6	1459,3	850,3	2150,9	1875,4	1341,5	2206,4	1911,6	545,0
Somme biomasse sèche obtenue par modalité (g)	2893,5			2905,1			5367,9			4663,0		
Moyenne biomasse sèche obtenue (g)	964,5			968,4			1789,3			1554,3		
Ecart type biomasse sèche obtenue (g)	436,2			443,8			411,5			886,5		
Productivité par bassin (g PS/jour/m²) (spiruline à 100% siccité)	3,3	2,9	1,2	1,5	3,7	2,2	5,5	4,8	3,4	5,7	4,9	1,4
Productivité moyenne par modalité (g PS/jour/m²) (spiruline à 100% siccité)	2,47			2,48			4,58			3,98		
Ecart type productivité (g PS/jour/m²)	1,12			1,14			1,05			2,27		
Pourcentage de différence par rapport au témoin "conventionnel"	/			0,40%			85,51%			61,15%		

DIAPOS BONUS

Tableau résultats bilan de masse

			Urée + MAP	Alcali + AcP	Sulfate de NH4 + AcP	
			Bassin 6	Bassin 7	Bassin 5	
Intrants	Estimation azote en provenance de l'eau neuve dans le milieu de culture initial + compensation évaporation (g)		11,2	11,2	11,2	sur la base des analyse d'eau neuve
	Estimation azote apporté par la spiruline à l'ensemencement (g)		76,8	76,8	76,8	sur la base de 20L de crème de spiruline à 4% de siccité, par bassin
	Azote apporté dans le milieu de culture initial (g)	N venant de l'urée	10	0	0	
		N-NH4 intrants alcali et sulfNH4	0	10	10	
		N-NH4 venant du phosphate monoammonique	24,35	0	0	
		N-NO3 venant du nitrate de potasse	277,2	10,0	10,0	
	Azote apporté en phase de culture (g)		730,0	730,0	730,0	10g de N * nombre de jours d'apports
	SOMME N intrants		**1129,6**	**838,0**	**838,0**	
Extrants	Spiruline sortie du système (somme des récoltes + résidus à TFinal) (gMS)	Spiruline récoltée (gMS)	1120,0	1875,0	2206,4	somme des récoltes, en MS
		Spiruline résiduelle (gMS)	396,5	318,1	359,6	pesé et séché après filtration totale du milieu
	Azote fixé dans la spiruline sortie du système (g)		150,0	205,3	258,7	biomasse sèche * taux de protéines mesurée * 16% (taux de N dans protéines)
	Azote résiduel (azote global dans le milieu de culture) (g)		640,8	210,5	209,4	
	SOMME N extrants		**790,7**	**415,8**	**468,1**	
	Déduction estimation évaporation N sous forme de gaz (g)		338,9	422,2	369,9	
Devenir de l'azote	Part évaporation N (%)		30,0%	50,4%	44,1%	
	Part N fixée dans la spiruline (%)		13,3%	24,5%	30,9%	
	Part N résiduel dans le milieu (%)		56,7%	25,1%	25,0%	
	Indice de conversion azote / spiruline		7,5	4,1	3,2	
Formes azotées résiduelles	Part forme N-NO3 dans azote résiduel du milieu (%)		99,5%	95,7%	95,2%	
	Part forme N-NO2 dans azote résiduel du milieu (%)		0,0%	0,0%	1,3%	
	Part forme N Kjeldahl (N-NH4 + azote organique) dans azote résiduel du milieu (%)		0,6%	4,4%	3,0%	

LYCEE AQUACOLE LA CANOURGUE 2018

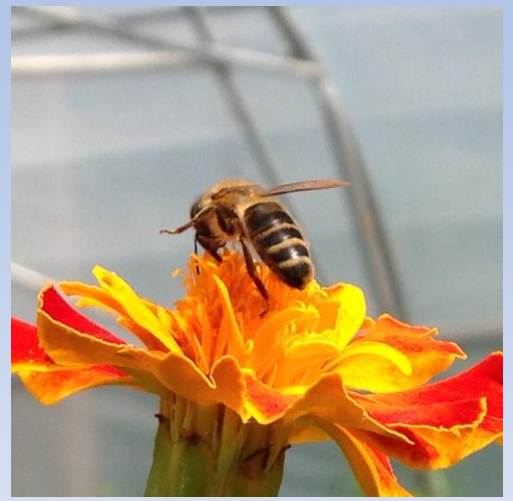
ETUDE DES INTRANTS BIO
SUR LA PRODUCTIVITE ET LA QUALITE DE LA SPIRULINE

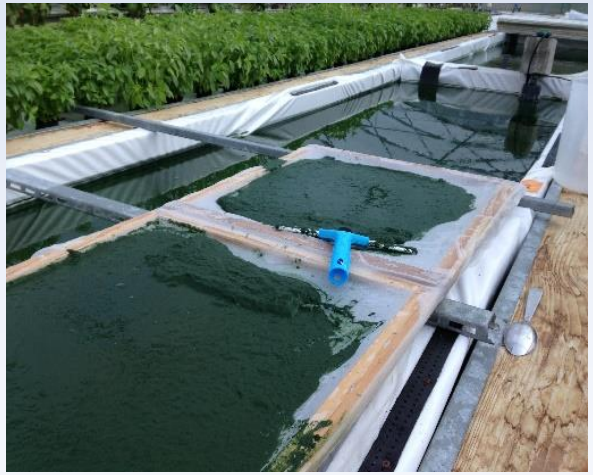
I. CONTEXTE EXPERIMENTAL
II. STRUCTURES ET PROTOCOLES
III. BILAN DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES
IV. BILAN DES PRODUCTIONS
V. ETUDE FLORISTIQUE ET MICROCYSTINES
VI. CONCLUSION

avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

Catherine LEJOLIVET - LEGTPA LOZERE - 20/11/18

I. Contexte expérimental



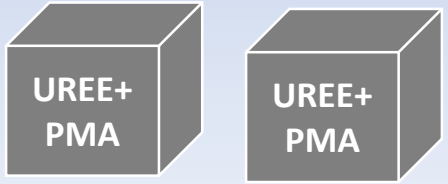


II. Structures et Protocoles sur souche Paracas

RAPPEL 2017

ALCALI + PMA	NH4 + PMA	ALCALI + PMA	NH4 + PMA

4 BASSINS expérimentaux – 2 modalités – 2 répétitions - 820 L unitaire – 4,2m² - 19cm



UNITES TEMOIN sur milieu conventionnel :
2 subcarrés : 450 L - 2,25m² - 30cm

II. Structures et Protocoles sur souche Paracas

2018

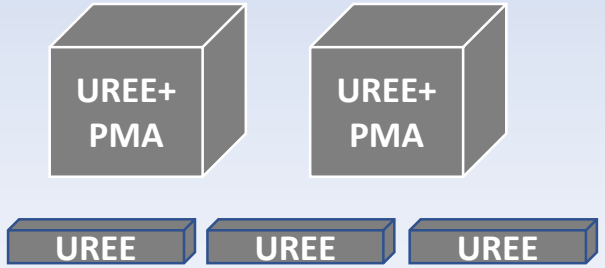
UREE + PMA	ALCALI + AcP ou NH4 + AcP	UREE + PMA	ALCALI + AcP ou NH4 + AcP

U R E E

U R E E

U R E E

4 BASSINS expérimentaux – 2 modalités – 2 répétitions - 820 L unitaire – 4,2m² - 19cm



6 aquariums de 230 L

UNITES D'EXTENSION :
2 subcarrés : 450 L - 2,25m² - 20cm

II. Structures et Protocoles sur souche Paracas

PROTOCOLE 1	UREE+PMA 1	UREE+PMA 2	ALC+AcP 1	ALC+AcP 2
Volume bassin (L)	820	820	820	820
Ensemencement	06/07/18	06/07/18	16/07/18	16/07/18
Vol.Crème (L)	5	5	5	5
Fin expé	27/08/18	27/08/18	27/08/18	27/08/18
Durée (j)	52	52	42	42
Nbre récoltes	5	4	4	4

PROTOCOLE 1	UREE+PMA 1	UREE+PMA 2	NH4+AcP 1	NH4+AcP 2
Volume bassin (L)	820	820	820	820
Ensemencement	29/08/18	29/08/18	29/08/18	29/08/18
Vol.Crème (L)	5	5	5	5
Fin expé	11/10/18	11/10/18	11/10/18	11/10/18
Durée (j)	42	42	43	43
Nbre récoltes	5	5	5	5

II. Structures et Protocoles

MILIEUX DE CULTURE

UREE + PMA			ALCALI + AcP			SULFATE AMMONIUM + AcP		
PRODUIT	FORMULE	/L culture	PRODUIT	FORMULE	/L culture	PRODUIT	FORMULE	/L culture
Bicarbonate Sodium	$NaHCO_3$	3	Bicarbonate Sodium	$NaHCO_3$	8	Bicarbonate Sodium	$NaHCO_3$	3
Chlorure sodium	NaCl	4	Chlorure sodium	NaCl	4	Chlorure sodium	NaCl	4
Nitrate potassium	KNO_3	2	Nitrate potassium	KNO_3		Nitrate potassium	KNO_3	
Sulfate potassium	K_2SO_4		Sulfate potassium	K_2SO_4	1,72	Sulfate potassium	K_2SO_4	1,72
Sulfate magnésium	$MgSO_4$	0,2	Sulfate magnésium	$MgSO_4$	0,2	Sulfate magnésium	$MgSO_4$	0,2
Phosphate monoammonique	NH4H2PO4	0,2	**ACIDE PHOSPHOR.(ml)**	P_2O_5	0,18	**ACIDE PHOSPHOR.(ml)**	P_2O_5	0,18
Sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de $FeSO_4$	0,05	Sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de $FeSO_4$	0,05	Sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de $FeSO_4$	0,05
Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01	Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01	Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01
UREE (g/jour - 5/7)	CH_4N_2O	0,02	ALCALI (ml/j -5/7)	NH_4OH	0,08	Sulfate d 'ammonium (ml/j 5/7)	$(NH_4)_2SO_4$	0,105

Apport de 10mg N-NH4/L/j

II. Structures et Protocoles

MILIEUX DE RECOLTE

UREE + PMA

PRODUIT	FORMULE	/g spiruline sèche
Bicarbonate Sodium	NaHCO3	3
sulfate potassium	K2SO4	0,04
sulfate magnésium	MgSO4	0,03
PMA	NH4H2PO4	0,06
sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de FeSO4	0,05
Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01

ALCALI + AcP

PRODUIT	FORMULE	/g spiruline sèche
Bicarbonate Sodium	NaHCO3	3
sulfate potassium	K2SO4	0,04
sulfate magnésium	MgSO4	0,03
ACIDE PHOSPHOR.(ml)	P2O5	0,055
sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de FeSO4	0,05
Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01

SULFATE AMMONIUM + AcP

PRODUIT	FORMULE	/g spiruline sèche
Bicarbonate Sodium	NaHCO3	3
sulfate potassium	K2SO4	0,04
sulfate magnésium	MgSO4	0,03
ACIDE PHOSPHOR.(ml)	P2O5	0,055
sulfate Fer Chélaté (ml)	ml de FeSO4	0,05
Oligo 7 (ml)	ml d'oligo	0,01

II. Structures et Protocoles

Paramètre	Matin	Après-midi
Odeur, couleur, aspect	Du lundi au dimanche	Du lundi au dimanche
T°air, T°eau, pH, EC, Secchi, O2	Du lundi au dimanche (multi paramètres Hach)	Du lundi au dimanche
N-NH4+$^+$ et N-NO_3^-	Ponctuellement avant apport (spectrophotomètre DR2800)	*
Densité optique (560-800nm)		1fois/semaine veille récolte avec DR2800/4000)
Nettoyage des bords et extraction des débris	Du lundi au dimanche	*
Compensation évaporation	Du lundi au dimanche avec eau de source	*
Apport N sur la base d'un apport de 10mg/L/j de N-NH_4^+	Du lundi au vendredi après compensation évaporation. Jeûne le week-end	*
Récolte et apport milieu de récolte	Par écrémage le matin après arrêt brassage pendant la nuit précédente 1 fois par semaine à Secchi 1.5-2cm → secchi 3.5-4cm	*
Poids sec	1 fois par récolte sur 20-50g de spiruline pressée – 6h à 40°C et pesée avec balance de laboratoire (0,001g)	
Observations microscopiques	2 fois / mois sous Microscope Nikon	
Analyses bactériologiques (Labo Départemental) et floristiques + Microcystines (Sarl Limnologie)	Bactério : 1 fois au cours du protocole : Urée +PMA vs Sulf.ammonium + Ac. phosphorique. Flore : différents échantillons ont été analysés pour le protocole 1 en phase de canicule et 1 fois au cours de septembre (protocole 2)	

II. Bilan des paramètres physico-chimiques

T°C

Température cultures PROTOCOLE 1 : 16/07-27/08 - 7s

	AIR	UREE 1	UREE 2	ALCALI 1	ALCALI 2
Moy.08h	18,5	21,6	21,0	21,2	21,1
ET	2,74	2,07	2,13	1,99	1,95
Moy.16h	39,8	28,8	29,4	28,9	29,1
ET	6,21	3,06	3,42	3,42	3,46
Moy.générale	27,9	24,5	25,2	25,1	25,1
ET	11,74	4,45	5,08	4,79	4,87
T°max	48,90	34,30	34,70	34,30	34,70
T°min	13,90	16,00	16,00	16,40	16,30
°C*j	1990	1354	1342	1081	1083

Température cultures PROTOCOLE 2 : 29/08 - 11/10 - 7s

	AIR	UREE 1	UREE 2	NH4 1	NH4 2
Moy.08h	15,4	17,5	17,5	17,7	17,6
ET	2,63	1,62	1,76	1,61	1,66
Moy.16h	31,3	23,6	23,8	23,8	24,0
ET	5,67	3,14	3,35	3,18	3,13
Moy.générale	23,3	20,6	20,6	20,8	20,8
ET	9,12	3,94	4,14	3,98	4,07
T°max	39,60	27,70	27,80	28,10	28,00
T°min	10,80	14,20	14,20	14,50	14,20
°C*j	1026	915	907	913	914

II. Bilan des paramètres physico-chimiques

pH

pH cultures PROTOCOLE 1 : 16/07-27/08 - 7s

	UREE 1	UREE 2	ALCALI 1	ALCALI 2
Moy.08h	9,8	10,0	10,0	10,0
ET	0,15	0,17	0,26	0,30
Moy.16h	9,8	9,9	10,0	10,0
ET	0,16	0,16	0,25	0,30
Moy.générale	9,8	9,9	10,0	10,0
ET	0,16	0,17	0,26	0,30

pH cultures PROTOCOLE 2 : 29/08 - 11/10 - 7s

	UREE 1	UREE 2	NH4 1	NH4 2
Moy.08h	9,9	9,9	9,9	9,9
ET	0,20	0,20	0,20	0,19
Moy.16h	9,9	9,9	9,8	9,8
ET	0,17	0,18	0,16	0,16
Moy.générale	9,9	9,9	9,9	9,8
ET	0,19	0,19	0,18	0,18

II. Bilan des paramètres physico-chimiques

EC

EC cultures PROTOCOLE 1 : 16/07-27/08 - 7s

	UREE 1	UREE 2	ALCALI 1	ALCALI 2
Moy.08h	16,5	16,0	16,9	16,8
ET	0,87	0,56	0,27	0,72
Moy.16h	16,4	16,1	17,0	16,9
ET	0,80	0,62	0,31	0,62
Moy.générale	16,4	16,1	17,0	16,8
ET	0,79	0,59	0,29	0,66

EC cultures PROTOCOLE 2 : 29/08 - 11/10 - 7s

	UREE 1	UREE 2	NH4 1	NH4 2
Moy.08h	16,6	16,7	16,3	16,8
ET	0,44	0,65	0,56	0,58
Moy.16h	16,8	16,8	16,5	16,9
ET	0,44	0,57	0,52	0,47
Moy.générale	16,7	16,7	16,4	16,8
ET	0,45	0,61	0,54	0,53

IV. Bilan des productions

PRODUCTION DE SPIRULINE 2018 LA CANOURGUE - gPS total - /m² - /m²/j

UREE + PMA vs ALCALI + AC.PHOSPHORIQUE
sur période 06/07-16/07 au 27/08

UREE + PMA vs SULF.AMMONIUM + AC.PHOSPHORIQUE
sur période 29/08 au 11/10

	UREE 1-1 (52j)	UREE 2-1 (52j)	ALCALI 1 (42j)	ALCALI 2 (42j)	UREE 1-2 (42j)	UREE 2-2 (42j)	NH4 1 (43j)	NH4 2 (43j)
g PS tot	1113,6	844,8	951,9	858,4	541,7	730,8	665,1	646,4
g PS /m²	265,1	201,1	226,7	204,4	129,0	174,0	158,4	153,9
g /m² / j	**5,1**	**3,9**	**5,4**	**4,9**	**3,1**	**4,1**	**3,7**	**3,6**
Moyenne	**4,48**		**5,13**		**3,61**		**3,63**	
gain %	*		**14%**				**1%**	
°C* j	1354	1342	1081	1083	915	907	913	914

Programme 2017 : de S25 à S35 - 23/06 au 03/09 - 73j						
BASSINS	Urée1	Urée2	Alca1	Alca2	NH4-1	NH4-2
surface (m²)	*1,96*	*1,96*	*4,27*	*4,27*	*4,27*	*4,27*
TOTAL PS (g)	185,1	225,6	1371,4	1693,2	1143,7	1028,4
TOTAL PS g/m²	94,4	115,1	321,2	396,5	267,8	240,8
Moyenne PS g/m²/j	**1,29**	**1,58**	**4,40**	**5,43**	**3,67**	**3,30**
Moyenne par modalité	**1,44**		**4,92**		**3,48**	
DIFFERENTIEL	Référence		243%		143%	

de S36 à S45 : du 04/09 au 10/11 : 63j						
BASSINS	Urée1	Urée2	Alca1	Alca2	NH4-1	NH4-2
TOTAL PS (g)	49,7	55,0	419,4	359,5	207,3	267,2
TOTAL PS g/m²	25,4	28,1	98,2	84,2	48,6	62,6
Moyenne PS g/m²/j	0,40	0,45	1,56	1,34	0,77	0,99
Moyenne par modalité	**0,42**		**1,45**		**0,88**	
DIFFERENTIEL	Référence		241%		108%	

VI. Etude floristique et microcystines sur spiruline fraiche

COMPOSITION FLORISTIQUE - LA CANOURGUE 2018

MODALITES UREE + PMA	PROTO. 1				PROTO. 2	PROTO. 1			PROTO. 2
	R1 160718	R1 230718	R1 070818	R1 210818	R1 130918	R3 230718	R3 070818	R3 210818	R3 130918
% biomasse	Urée PMA-1	Urée PMA-1	Urée PMA-1	Urée PMA-1	Urée PMA-2	Urée PMA-1	Urée PMA-1	Urée PMA-1	Urée PMA-2
Arthrospira ondulée	99,5	99,9	99,9	96,2	99,9	99,9	99,6	83,7	99,9
Arthrospira droite	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	16,3	n.d.
Arthrospira spiralée	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TOTAL	**99,5**	**99,9**	**99,9**	**96,2**	**99,9**	**99,9**	**99,6**	**100**	**99,9**
Cyanobium	0,5	0	0	0	<0,1	0	0	0	0
Leptolyngbya	0	0,1	<0,1	3,8	<0,1	0	0,4	<0,1	0,1
Planktolyngbya	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Pseudanabaena	<0,1	<0,1	0	0	<0,1	0	0	0	<0,1
Chlorophycées (Stigeoclonium)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	0,5	0,1	0,1	3,8	0,1	<0,1	0,4	<0,1	0,1
Microcystines (eq-LR, µg/g Psec)	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15

MODALITES ALCALI ou NH4 +Ac P.		PROTO. 1			PROTO. 2	PROTO. 1			PROTO. 2
		R2 310718	R2 080818	R2 220818	R2 110918	R4 010818	R4 080818	R4 220818	R4 110918
% biomasse		ALC-AcP	ALC-AcP	ALC-AcP	NH4-AcP	ALC-AcP	ALC-AcP	ALC-AcP	NH4-AcP
Arthrospira ondulée		99,3	93,6	99,9	99,9	99,8	99,8	99,7	99,9
Arthrospira droite		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Arthrospira spiralée		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TOTAL		**99,3**	**93,6**	**99,9**	**99,9**	**99,8**	**99,8**	**99,7**	**99,9**
Cyanobium		0	0	0	0	0	0	0	0
Leptolyngbya		0,7	0,5	0	0	0,2	0,2	0,3	0,1
Planktolyngbya		<0,1	0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Pseudanabaena		<0,1	0	0	<0,1	0	<0,1	<0,1	0
Chlorophycées (Stigeoclonium)		n.d.	5,8	0	0	0	0	0	0
TOTAL		0,7	6,4	0,1	0	<0,1	0,2	<0,1	0,1
Microcystines (eq-LR, µg/g Psec)		<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15

VII. Conclusion

1-La modalité la plus favorable est :
Alcali + acide phosphorique avec des gains de 14% par comparaison avec Urée + PMA, soit **5,13gPS/m²/j** à 600m d'altitude.

2-L'analyse bactériologique conduite fin septembre sur Urée PMA vs NH4 Ac.P met en évidence la présence d'une **flore variée et abondante** notamment dans le milieu « bio sulfate d'ammonium » dès la sortie du bassin.

3-Les cultures ne présentent **pas de proportions significatives de droites**, ni de cyanobactéries indésirables : **microcystines <0,15µg/g de Poids sec**.

Résultats principaux 2017-2018, Travaux 2019

FSF – CASDAR Spiruline Paysanne: Novembre /2019

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE
DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION
avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural»

Sources d'azote « bio »:

« Alcali »: valorisation Azote ammoniacal usines de compostages

« Sulfate d'ammonium »: valorisation Azote ammoniacal boues de méthanisation

Source de phosphore « bio »:

« Extrait acide de laminaire »: entreprise Agrimer, acide phosphorique extrait d'algues brunes

Source de potassium « bio »:

Sulfate de potasse

Source de NPK organique:

Isotonic B: entreprise BIO3G, à base de jus et crème d'algues, coquilles marines calcaires, substances végétales, extraits de plantes, bactéries telluriques, acides aminés. N,P2O5,K2O (3%*, 2%**, 2%***) + 0,007% de fer

Thématique rendement/tests bio: bilan 2017-2018

Les valeurs indiquées dans les tableaux sont des rendements en gMS/m²/jour

Saison	Nombre de réplicats	Mode d'apport de l'azote	Concentration d'apport de l'azote	Urée		Alcali	Sulfate de NH4	Frayssinet (organique)
				MAP	Acide P			
Eté 2017	3	Apport milieu de culture en batch	310 mgN/L à l'ensemencement	4,36 (±0,40)	/	/	/	0
		Apport journalier (en un apport)	20 mgN/L/jour	/	/	2,56 (±1,41)	2,42 (±0,03)	/

Saison	Nombre de réplicats	Mode d'apport de l'azote	Concentration d'apport de l'azote	Urée	Alcali
				MAP	Acide P
Automne 2017	3	Apport milieu de culture en batch	310 mgN/L à l'ensemencement	2,21 (±0,15)	/
		Apport journalier (en un apport)	10 mgN/L/jour	/	2,08 (±0,45)
		Apport journalier (en goutte à goutte)		/	2,29 (±0,13)

Saison	Nombre de réplicats	Mode d'apport de l'azote	Concentration d'apport de l'azote	Urée		Alcali	Sulfate de NH4
				MAP	Acide P		
Eté 2018	3	Apport journalier (en un apport)	10 mgN/L/jour	2,47 (±1,12)	2,48 (±1,14)	4,58 (±1,05)	3,98 (±2,27)

Saison	Nombre de réplicats	Mode d'apport de l'azote	Concentration d'apport de l'azote	Urée	Sulfate de NH4	Isotonic (organique)	Isotonic (organique) + sulfate de NH4
				MAP	Acide P		
Eté 2018	1	Apport milieu de culture en batch	310 mgN/L à l'ensemencement	4,42	/	/	/
		Apport journalier (en un apport)	10 mgN/L/jour	/	4,28	4,42	/
			20 mgN/L/jour	/	/	/	2,96

Principales conclusions

- Milieu conventionnel **plus performant** que milieux bio 20mgN/L/jour
- Milieux alcali et sulfate de NH4 à peu près aussi performants
- Milieu organique frayssinet: échec de culture

- Milieu conventionnel **aussi performant** que milieux bio 10 mgN/L/jour
- Apport fractionné d'alcali avec distribution en goutte à goutte pas beaucoup plus performant que l'apport fractionnée avec distribution en une fois

- Milieu conventionnel avec apport journalier d'urée **moins performant** que milieux bio 10 mgN/L/jour
- Pas d'impact de la source de phosphore sur un milieu conventionnel (MAP VS AcP)
- Pas de différence significative de performance entre milieiux alcali et sulfate de NH4

- Milieux conventionnel avec apport en batch d'urée **aussi performant** que milieux bio sufate de NH4 10 mgN/L/jour
- Possible de travailler avec un intrant organique avec un rendement comparable avec le conventionne et le bio sulfate de NH4
- Impact délétère sur la culture du mélange isotonic/sulfate de NH4

Thématique rendement/tests bio: orientations printemps/été 2019

				Urée	Sulfate de NH4 OU alcali	Isotonic (organique)	Aquaponie	Guano
Saison	Nombre de réplicats	Mode d'apport de l'azote	Concentration d'apport de l'azote	MAP	Acide P			
Mai//juin 2019	3	Apport milieu de culture en batch	310 mgN/L à l'ensemencement	X			X	X
		Remplacement des milieux de récolte par eau aquaculture					X	
		Apport journalier (en un apport)	10 mgN/L/jour		X	X		

Objectifs:

-Confirmer répétabilité performance intrant sulfate de NH4 OU alcali sur un pas de temps de deux mois

-Confirmer répétabilité performance intrant organique sur un pas de temps de deux mois

-Comparer sur un même pas de temps conventionnel avec apport d'urée en batch et apport d'urée en fractionné 10mgN/L/jour

-Tester la faisabilité du remplacement des intrants minéraux ajoutée post récolte par de l'eau de l'aquaponie (compensation de l'évaporation)

-Tester la faisabilité de l'utilisation de guano pour de la culture de spiruline

Thématique rendement/tests bio: orientations printemps/été 2019

M1	Guano
M2	M3
M4	M5
M1	M2
M3	M4
M5	M1
M2	M3
M4	M5

Nouveaux bassins:

-Espace moins disponible dans les serres RATHO
-Effet lumière constaté les autres années: utilisation de ligne homogène en lumière
-Volumes de 150L (déjà testé auparavant en parallèle des basins de 1000L) + bâche EPDM alimentaire
-Pompes de brassage plus douces (Wiltec)

	Apport journalier
M1 : Témoin conventionnel urée batch	/
M2 : Témoin conventionnel urée fractionné	3 g Urée
M3 : Modalité bio: sulfate de NH4	10,5 mL Sulfate NH4
M4 : Modalité bio: bio3G (organique)	46 mL isotonic
M5 : Modalité aquaponie	/
M6 bonus : Guano marin	/

Point nécessaire sur budget analyse 2019:

-Microcystines/cyano/bactério/nutri?

Thématique qualité nutritionnelle de la spiruline

	Laboratoire	Unité	Urée + MAP	Alcali + AcP	SulfateNH4 + AcP	Isotonic Bio
Sodium	AQMC	mg/100g	1359,0	1539,0	1346,0	/
Fer	AQMC	mg/100g	58,4	57,4	43,2	/
Protéines	AQMC	g/100g	61,8	58,5	63,0	64,7
Béta-carotène	AQMC	mg/100g	128,0	103,0	141,0	121,0
Phycocyanines brutes	AQMC	g/100g	20,1	22,2	23,2	20,9
C-Phycocyanine	AQMC	g/100g	11,0	12,1	12,7	11,4

- Modalité sulfate NH4 supérieure en termes de taux de phycocyanine, bétacarotène, protéines… mais inférieure en terme de taux de fer
- Modalité Organique plus performante en terme de taux de protéines

Thématique sanitaire

→Analyses microbiologiques

			2017 (sur fraiche)					
			Urée		Alcali Batch		Alcali Gag	
Paramètres recherché	**Unités**	**Critères**	**Résultats**					
Micro organismes aérobies 30°C	UFC/g	100000	38000	CH satisfaisant	36000	CH satisfaisant	17000	CH satisfaisant
Coliformes thérmotolérants 44°°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant
Anaérobie sulfito réducteurs 46°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant
Clostridium perfringens	UFC/g	10	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	UFC/g	100	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant
Salmonella	/25g	Absence	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant
Listeria monocytogènes	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant

			2018 (sur sèche)							
			Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP		Isotonic B	
Paramètres recherché	**Unités**	**Critères**	**Résultats**							
Micro organismes aérobies 30°C	UFC/g	100000	3000	CH satisfaisant	12000	CH satisfaisant	3000	CH satisfaisant	5000	CH satisfaisant
Coliformes thérmotolérants 44°°C	UFC/g	100	180	CH acceptable	<10	CH satisfaisant	200	CH acceptable	<10	CH satisfaisant
Anaérobie sulfito réducteurs 46°C	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant
Clostridium perfringens	UFC/g	10	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant	<5	CH satisfaisant
Staphylocoques à coagulase positive	UFC/g	100	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant	<100	CH satisfaisant
Salmonella	/25g	Absence	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant	ND	CH satisfaisant
Listeria monocytogènes	UFC/g	100	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant	<10	CH satisfaisant

Thématique sanitaire

→Analyses cyano et microcystines réalisées sur batch triplicats/modalité

	Milieux de culture 18/07/2018					
	Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP	
	% colonies	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*
Total Arthrospira	**2,0**	**93,5**	**5,5**	**97**	**4,1**	**96,6**
Arthrospira ondulée	1,7	43,4	5	45,1	3,5	43,1
Arthrospira droite	0,2	39,7	0,5	51,4	0,6	52
Arthrospira spiralée	0,2	10,5	0	0,6	0,1	1,6
Autres cyanobactéries	**98,0**	**6,5**	**94,5**	**3**	**95,9**	**3,4**
Autres embranchements	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Microcystines (eq-LR, µg/litre)	**0,25**		**0,35**		**0,19**	

	Paillettes 18/07/2018					
	Urée + MAP		Alcali + AcP		Sulfate de NH4 + AcP	
	% colonies	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*	*% colonies*	*% biomasse*
Total Arthrospira	**46,4**	**99,6**	**52,7**	**99,9**	**48,4**	**99,9**
Arthrospira ondulée	37,8	51,2	50,3	60,8	27,1	6,7
Arthrospira droite	3,4	29,3	2,2	38,4	15,5	90,5
Arthrospira spiralée	5,2	19,2	0,2	0,8	5,8	2,6
Autres cyanobactéries	**53,6**	**0,4**	**47,3**	**<0,1**	**51,6**	**0,1**
Autres embranchements	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Microcystines (eq-LR, µg/gramme)	**0,35**		**0,38**		**0,36**	

Thématique sanitaire

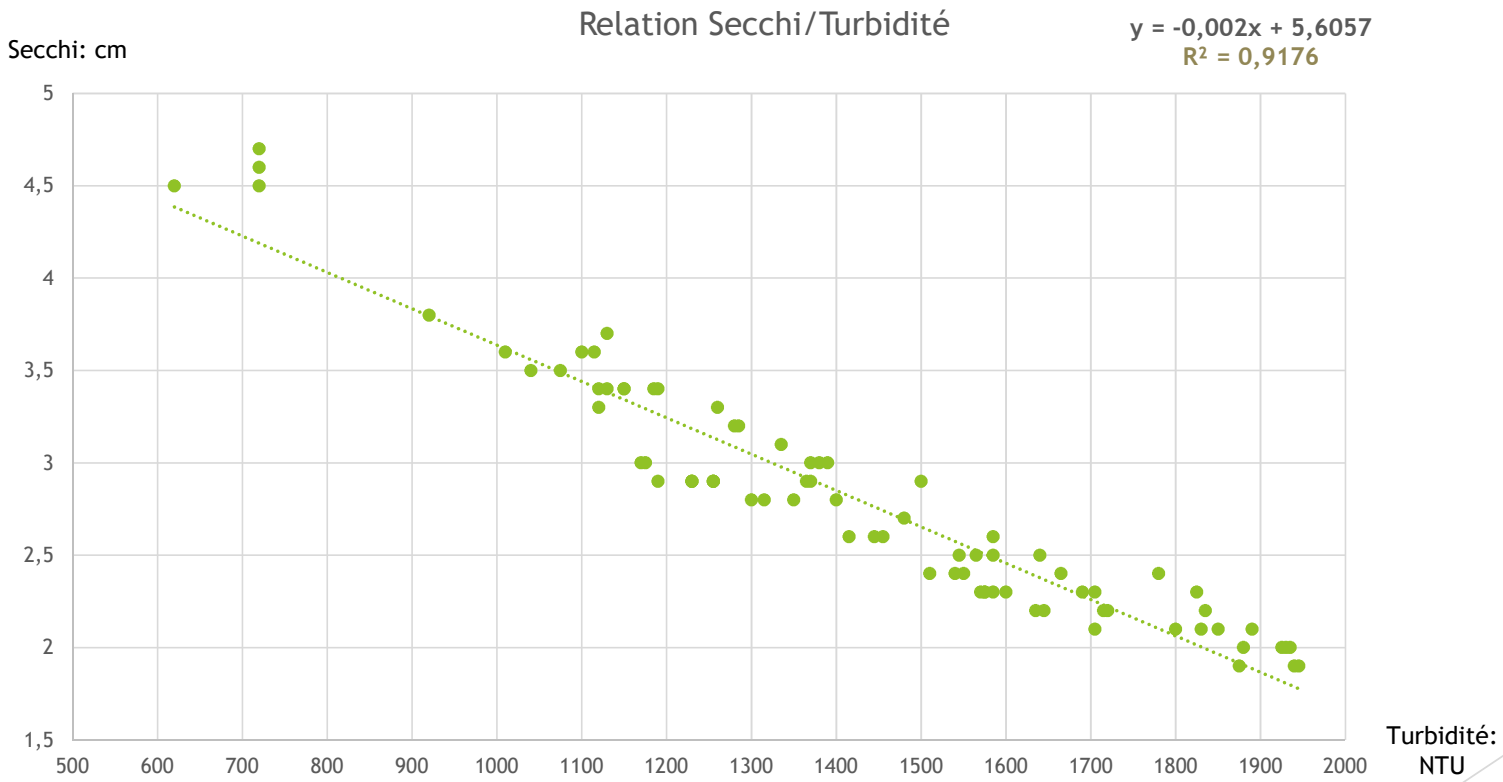
→Analyses sulfites

	Laboratoire	Unité	Urée + MAP	Alcali + AcP	SulfateNH4 + AcP
Sulfites (Méthode enzymatique)	AQMC	mg/kg	400,0	359,0	668,0
			140,0	72,0	535,0
			105,0	261,0	433,0
		Moyenne	215,0	230,7	545,3
		Ecart Type	161,2	145,9	117,8
Sulfites (Méthode Monnier Williams)	Eurofins	mg/kg	13,0	21,0	9,0
			24,0	19,0	11,0
			23,0	13,0	16,0
		Moyenne	20,0	17,7	12,0
		Ecart Type	6,1	4,2	3,6

Valeurs aberrantes au regard de la bibliographie

Valeurs cohérentes, mais > 10 mg/L

Méthode d'évaluation de la croissance de la spiruline



Méthode d'évaluation du bilan azote

Evaluation masse N apporté par les intrants du système sur l'ensemble de la culture:

- **N contenu dans:**
- Spiruline apportée à l'ensemencement
- Eau neuve composant milieu de base + compensation évaporation de l'eau
- Intrants azotés apportés dans le milieu initial et tout au long du cycle de production

Evaluation masse N retrouvé dans les extrants du système:

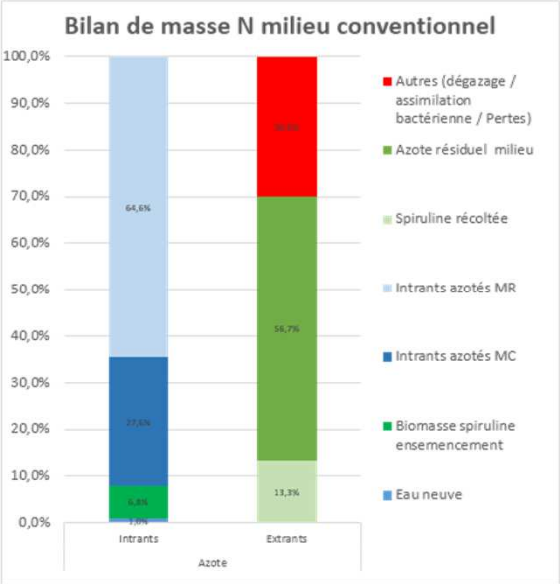
- **N contenu dans:**
- Spiruline récoltée tout au long de la période de tests
- Spiruline résiduelle dans le milieu (filtration de l'ensemble du volume du bassin)
- Milieu de culture résiduel (mesures des formes de N organique et N minéral après brassage et mise en suspension des particules accumulées dans le fond des bassins)

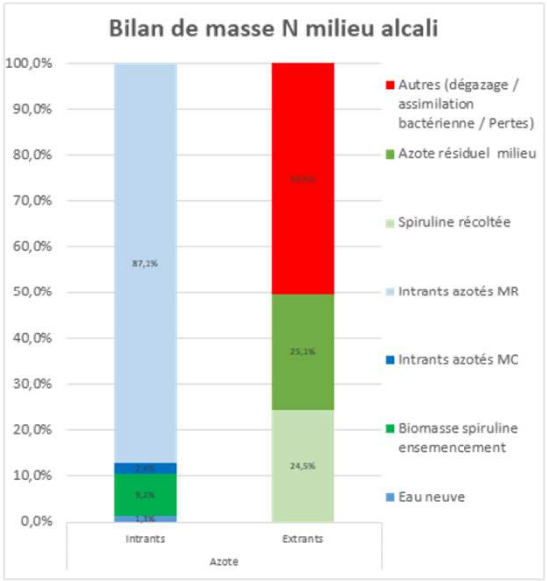
Trois conclusions possibles:

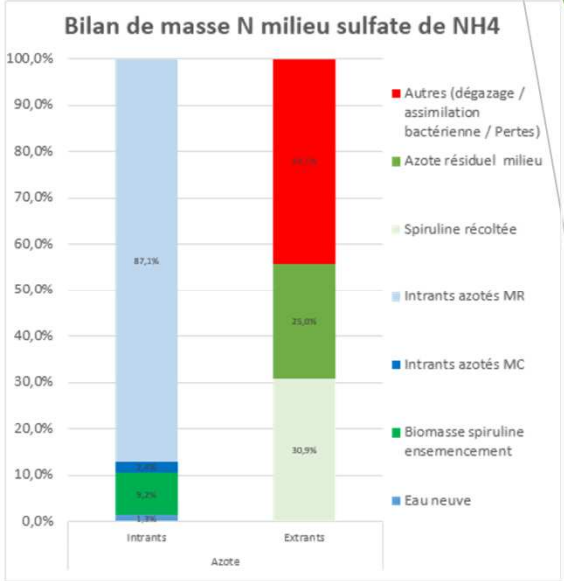
Si le bilan est équilibré, la relocalisation du N venant des intrants est identifiée

Si le bilan est déséquilibré, deux solutions selon le sens du déséquilibre:
-Perte d'azote: N évacué sous forme gazeuse
-Gain d'azote: N récupéré dans l'atmosphère et stocké dans le milieu de culture

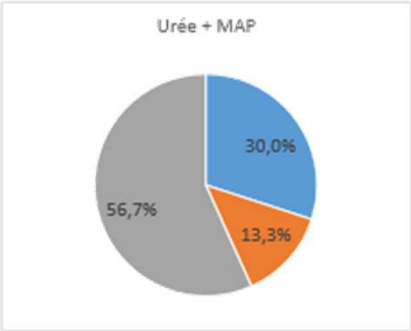
Résultats bilan de masse N (réalisés sur un bassin par modalité)

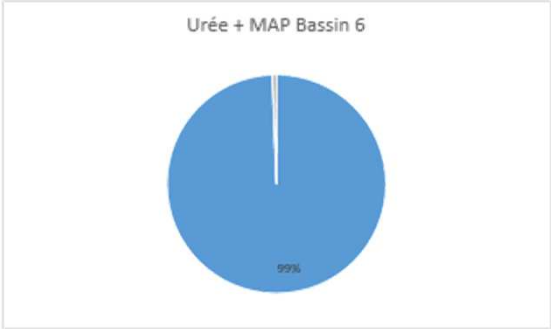


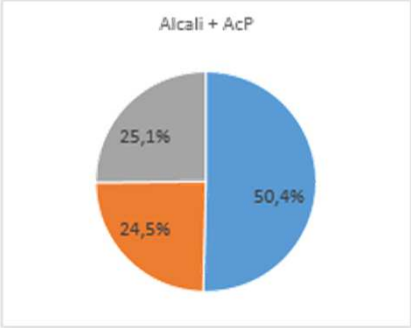


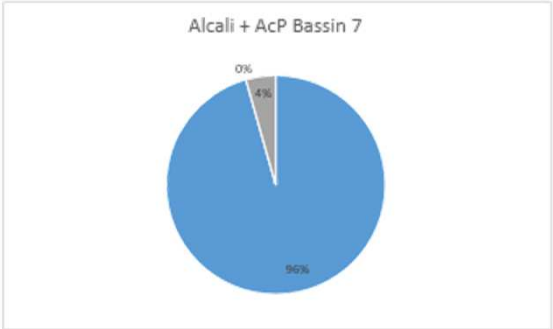


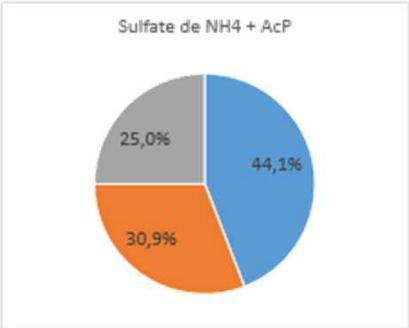
Résultats bilan de masse N

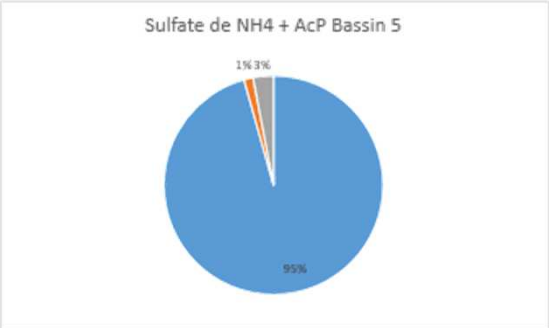






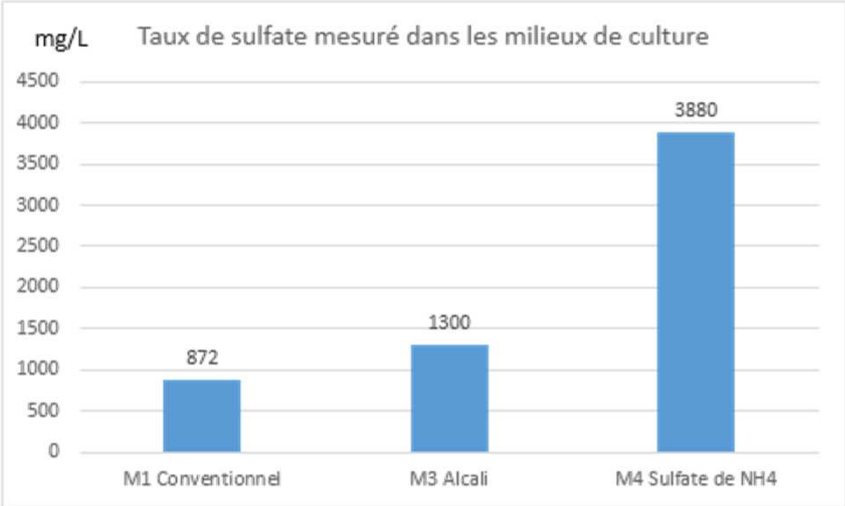






- Part évaporation N (%)
- Part N fixée dans la spiruline (%)
- Part N résiduel dans le milieu (%)

Thématique accumulation de sulfate



→Valeurs après deux mois de tests

→Risque pour accumulation bactéries sulfito réductrices?

→Risque de déséquilibre milieu de culture?

→Précipitation de CaSO4? / biblio hydroponie

	Origine sulfate selon les milieux		
Intrants sulfatés	**M1 et M2**	**M3**	**M4**
Sulfate de potasse	Milieu de récolte	Milieu de base ET milieu de récolte	Milieu de base ET milieu de récolte
Sulfate de magnésie	Milieu de base ET milieu de récolte		
Sulfate de fer			
Sulfate de NH4	/	/	

CEVA
CENTRE D'ETUDE & DE VALORISATION DES ALGUES

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

avec la contribution financière du compte d'affectation spéciale «Développement agricole et rural »

Bilan projet CasDar Spiruline Paysanne 2019

Structure du projet

Axe 1: Milieu	• *Optimisation des milieux: sources d'azote et éléments traces* • *Identification des contaminants*
Axe 2: Souches	• *Collection de Spiruline* • *Caractérisation des souches* • *Evaluation des performances*
Axe 3&4: Procédé, qualité et valorisation	• *Impact du séchage et de la récolte sur la qualité* • *Caractérisation nutritionnelle*
Axe 5: Spiruline BIO	• *Evaluation de la faisabilité d'une culture de spiruline BIO*
Axe 6: Formation et diffusion	• *Accompagnement et formation des nouveaux producteurs*

Axe 2 : Souches

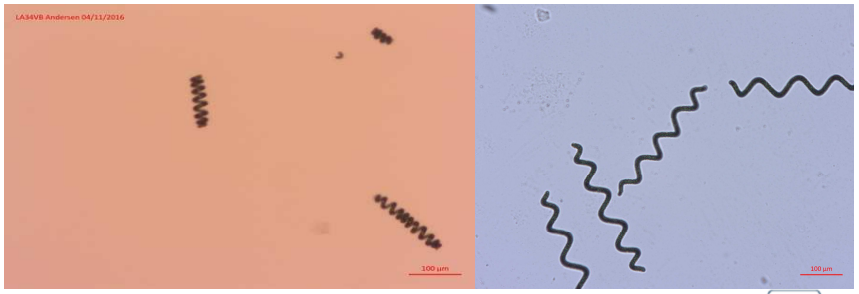
- **Année 1: Isolement et mise en collection**

Liste des souches en collection			
Milieu de culture: Andersen stérile + vit			
N°	Code souche	Caractéristique	Date de mise en collection
1	C34GP	Paracas	21/09/2016
2	P34GP	Paracas	21/09/2016
3	R34GP	Lonar	21/09/2016
4	T66CL	Lonar	21/09/2016
5	E83RR	Lonar	21/09/2016
6	M83RR	Lonar	21/09/2016
7	MD83RR	Droite	21/09/2016
8	K83RR	Lonar	21/09/2016
9	XP83RR	Paracas	21/09/2016
10	P34RB	Paracas	21/09/2016
11	LO38RG	Lonar	21/09/2016
12	D38RG	Droite	21/09/2016
13	LA34BV	Lonar	21/09/2016
14	P34BV	Paracas	21/09/2016
15	A35FP	Lonar	21/09/2016
16	E13VR	Paracas	21/09/2016
17	LO83GY	Lonar	21/09/2016
18	P83GY	Paracas	21/09/2016
19	D83GY	Droite	21/09/2016
20	P81AC	Paracas	21/09/2016
21	P85FR	Paracas	01/08/2017
22	L85FR	Lonar	01/08/2017
23	D85FR	Droite	01/08/2017
24	LPMEB	Lonar (EDM)	28/11/2016
25	PAMEB	Intermédiaire	28/11/2016
26	LCRMEB	Lonar	28/11/2016
27	LA85FR	Laayoune	20/03/2018
28	P69PF	Paracas	26/07/2018
29	LO69PF	Lonar	26/07/2018
30	D69PF	Droite (petite)	26/07/2018
31	DL69PF	Droite (longue)	26/07/2018

31 souches en collection au CEVA:

- Une fiche par souche : morphologie, caractérisation morphologique et suivis réalisés

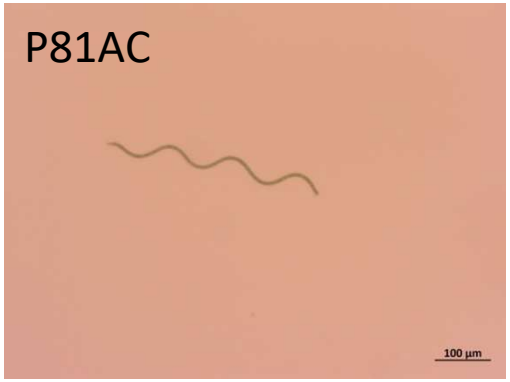
	LA34BV	LA85FR
	Moy (µm) ± ET	Moy (µm) ± ET
Diamètre filaments (µm)	9,3 ± 0,8	11,2± 0,6
Espacement spires (en µm)	19,5± 3,3	71,3± 5,0

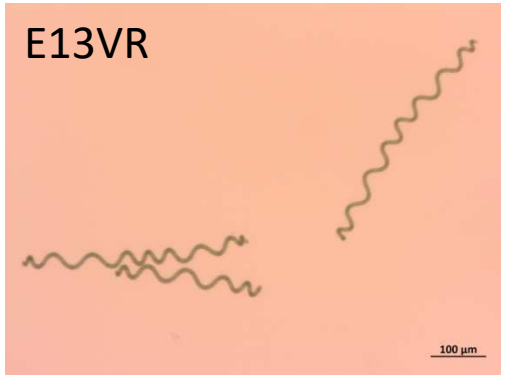


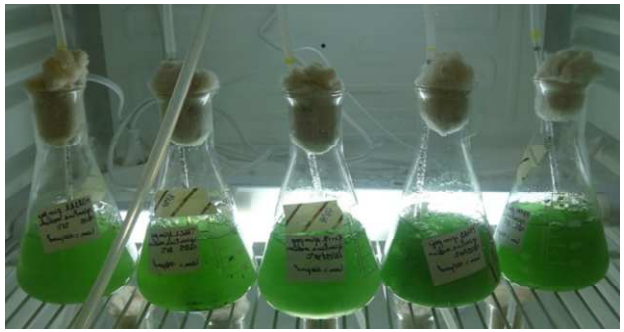
=> Historique des souches

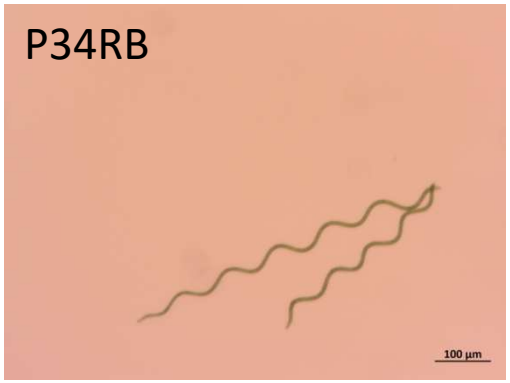
Axe 2: Souches

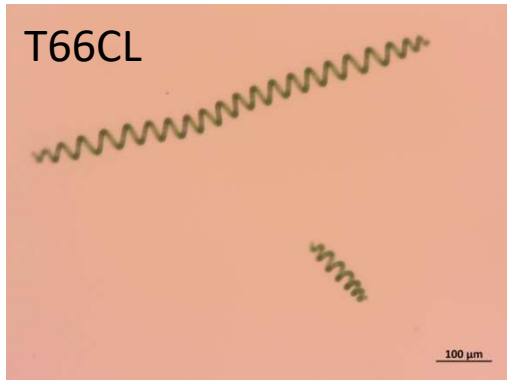
- **<u>Année 2: Performances des souches</u>**
- 2 morphologies Paracas (P81AC et P34RB)
- 2 morphologies Lonar (T66CL et E13VR)
- 1 morphologie droite (MD83RR)

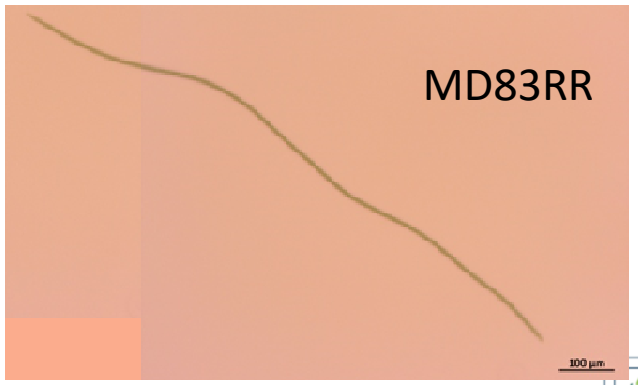












Axe 2 : Souches

- **<u>Année 2: Performances des souches</u>**

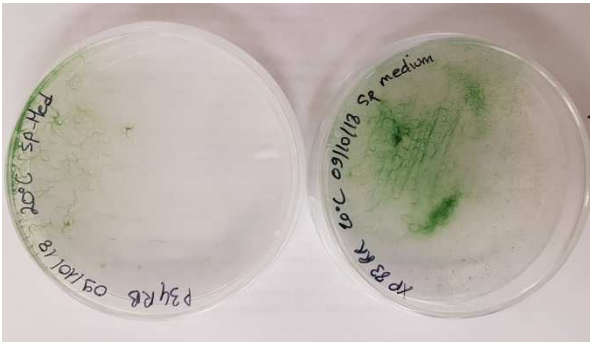
- 3 intensités lumineuses :
  - 20 µmol/m²/s
  - 100 µmol/m²/s
  - 200 µmol/m²/s
- Différentes températures :
  - 15°C puis 20°C
  - 30°C
  - 40°C

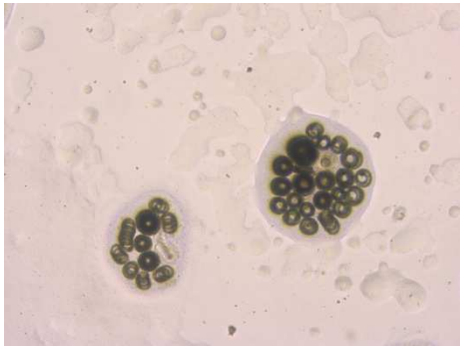
- Classement selon les absorbances maximales

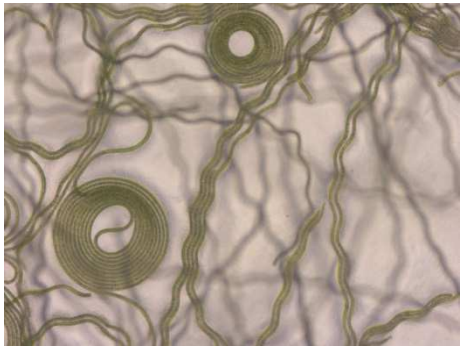
Intensité lumineuse	20 µmol/m²/s	100 µmol/m²/s	200 µmol/m²/s
Cycle 1 - 30°C	MD83RR	MD83RR / P81AC	P81AC / MD83RR
Cycle 2 - 30°C	P34RB / E13VR	MD83RR	MD83RR / E13VR
Cycle 3 -15 puis 20°C	P81AC / P34RB	P81AC / P34RB / MD83RR	P34RB / MD83RR
Cycle 4 - 40°C	MD83RR	MD83RR	MD83RR / E13VR
Cycle 5 - 30°C	MD83RR	MD83RR	MD83RR / P34RB

Axe 2 : Souches

- **<u>Année 3: Optimisation et maintien de la collection</u>**
  - Essais de conservation en milieu gélosé







  - (Ré)-Isolement de l'ensemble des souches en collection
  - Optimisation des systèmes de maintien en collection

Axe 4 : qualité produits

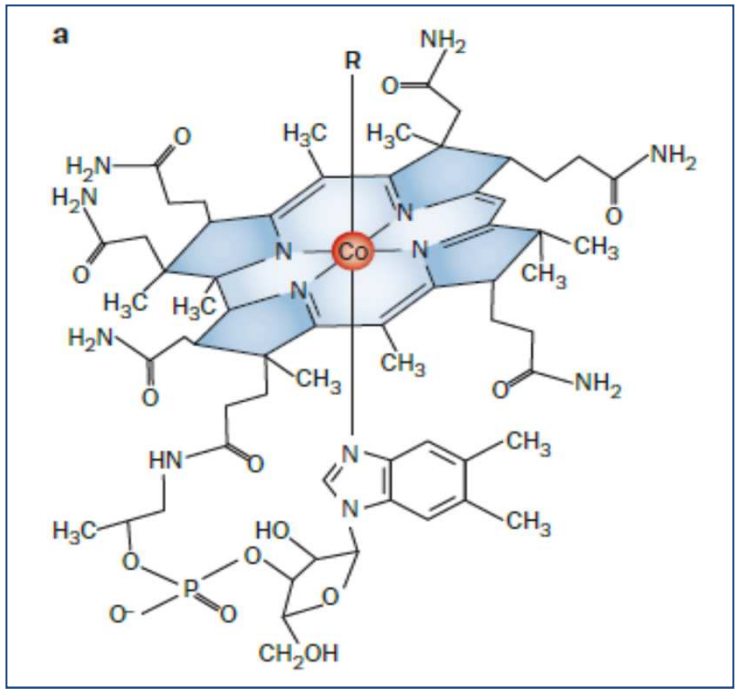
- **<u>Année 2 : Focus Vitamine B12</u>**

- **<u>Saisine n° 2014-SA-0096 de l'ANSES:</u>**

« l'Agence souligne que la spiruline ne constitue pas une source fiable de vitamine B12 pour les populations végétaliennes, celle-ci étant présente dans la spiruline majoritairement sous forme d'analogue inactif. »

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 2 : Focus Vitamine B12</u>**



- Vitamine de structure complexe
- Cobalamine : famille des corrinoïdes
- Noyau de 4 cycles pyroles avec au centre un atome de cobalt
- 2 ligands : un lower α-ligand et un upper β-ligand.
  - lower α-ligand : essentiel pour bioactivité
    - **structure benzimidazole-ribose-acide phosphorique liée à ce noyau ➔ DMBI. <u>Seule forme active chez l'homme.</u>**
    - Autre ligand : adenine ➔ pseudovitamine B12. inactive chez l'homme (active pour bactéries)
  - Upper ligand : conditionne la stabilité
    - groupe hydroxyl ➔ l'hydroxocobalamine
    - groupe méthyl ➔ la méthylcobalamine
    - résidu adénosyl, le 5-déoxyadénosyl ➔ l'adénosylcobalamine.
    - le cyanure (-CN) ➔ cyanocobalamine => forme la plus stable

Ref : Nielsen & al, 2012, Chamlagain & al, 2015

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 2 : Focus Vitamine B12</u>**
  - **<u>Méthode d'analyse :</u>**
    - Méthode microbiologique (historique, non spécifique) VS chemiluminescence
    - Divergence des résultats d'un facteur 6 à 9
- Base de données CEVA – B12 Spiruline (toutes méthodes)

Mini	Moyenne	Maxi
13,7µg/100g	236µg/100g	659µg/100g

- Analyse des corrinoïdes présents dans la spiruline (Watanabe & al, 1999)
  - Seule 17% de la vitamine B12 présente est active chez l'Homme

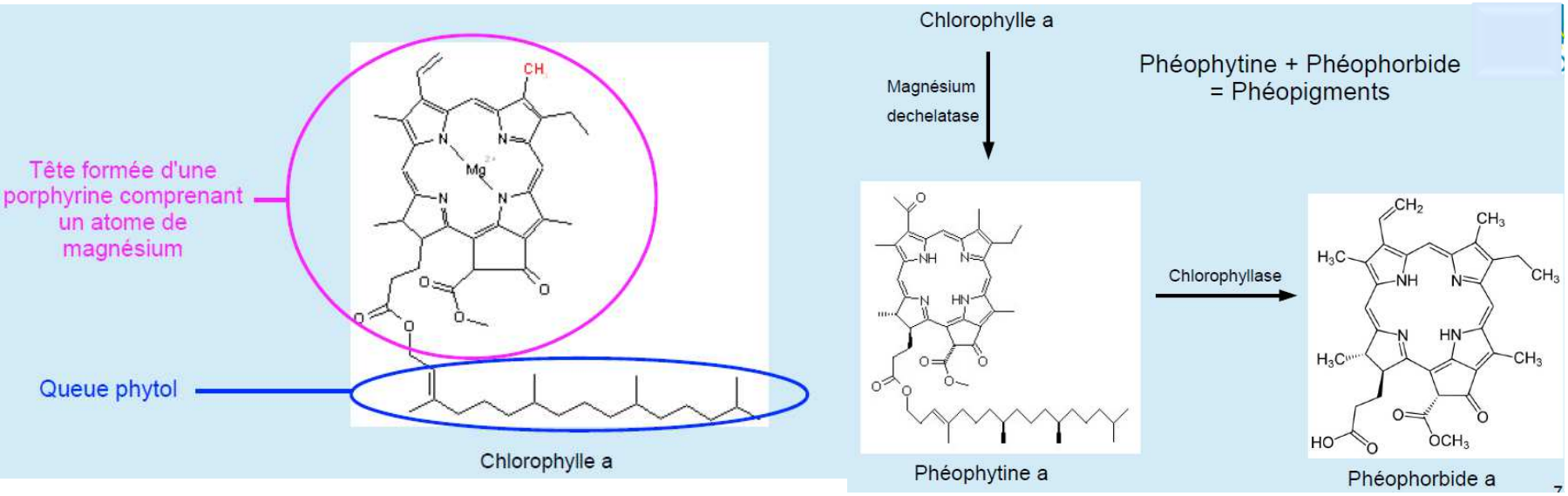
Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 2 : Focus Vitamine B12</u>**

- Majorité des formes de vitamine B12 présentes dans la spiruline sont inactives
  - Mais présence de vitamine B12 active
  - Liée à la présence de bactéries?
- Nécessité de développer des méthodes d'analyses adaptées à la matrice Spiruline
- Valider l'origine de la B12 dosée : Spiruline et microalgues en général / Bactérienne
- Projet B-Inside

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 3 : Dosage des phéophorbides</u>**
- Phéophorbide :
  - Produit de dégradation de la chlorophylle
  - Très sensible aux dégradations thermiques, chimiques ou enzymatiques



Chlorophylle ➔ **pheophytine** ➔ **phéophorbide**

perte de l'ion magnésium ***perte de la queue phytol***

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 3 : Dosage des phéophorbides</u>**
- Pourquoi les doser?
  - Critère de qualité de la spiruline
  - Peuvent être photosensibilisant
    - Ils peuvent provoquer des dermatoses lors de l'exposition de la peau à la lumière si consommés en grande quantité
    - Teneurs en phéophorbides à ne pas dépasser :
      - en Corée du sud pour la chlorelle, teneur phéophorbide < 1 g/kg
      - au Japon, phéophorbide < 0,8 g/kg
      - aux USA, dans certains dossiers GRAS spiruline (Parry Nutraceuticals), la teneur en phéophorbide est citée (< 0,8 g/kg)
      - aux USA, suivi analytique de la spiruline Earth Rise : dose moyenne de 0,23 g/kg

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 3 : Dosage des phéophorbides</u>**
- Principe du dosage
  - La chlorophylle et les phéopigments absorbent à la même longueur d'onde : **665 nm**
  - L'échantillon est acidifié pour transformer toutes les chlorophylles en phéopigments : rapport d'absorption relative des 2 pigments constants dans le même solvant
  - Mesure de l'absorbance avant et après acidification puis équations :

♦ Concentration en chlorophylle et en phéopigments (µg.mL-1)

$$[\text{chlorophylle a}] = 11{,}4 * K * (DO^{665}_{na} - DO^{665}_{a}) * f$$

$$[\text{phéopigments}] = 11{,}4 * K * (R * DO^{665}_{a} - DO^{665}_{na}) * f$$

- 11,4 : inverse coefficient d'extinction
- K = 2,43
- R = 1,7 (rapport d'absorption relative des 2 pigments constant dans le même solvant)

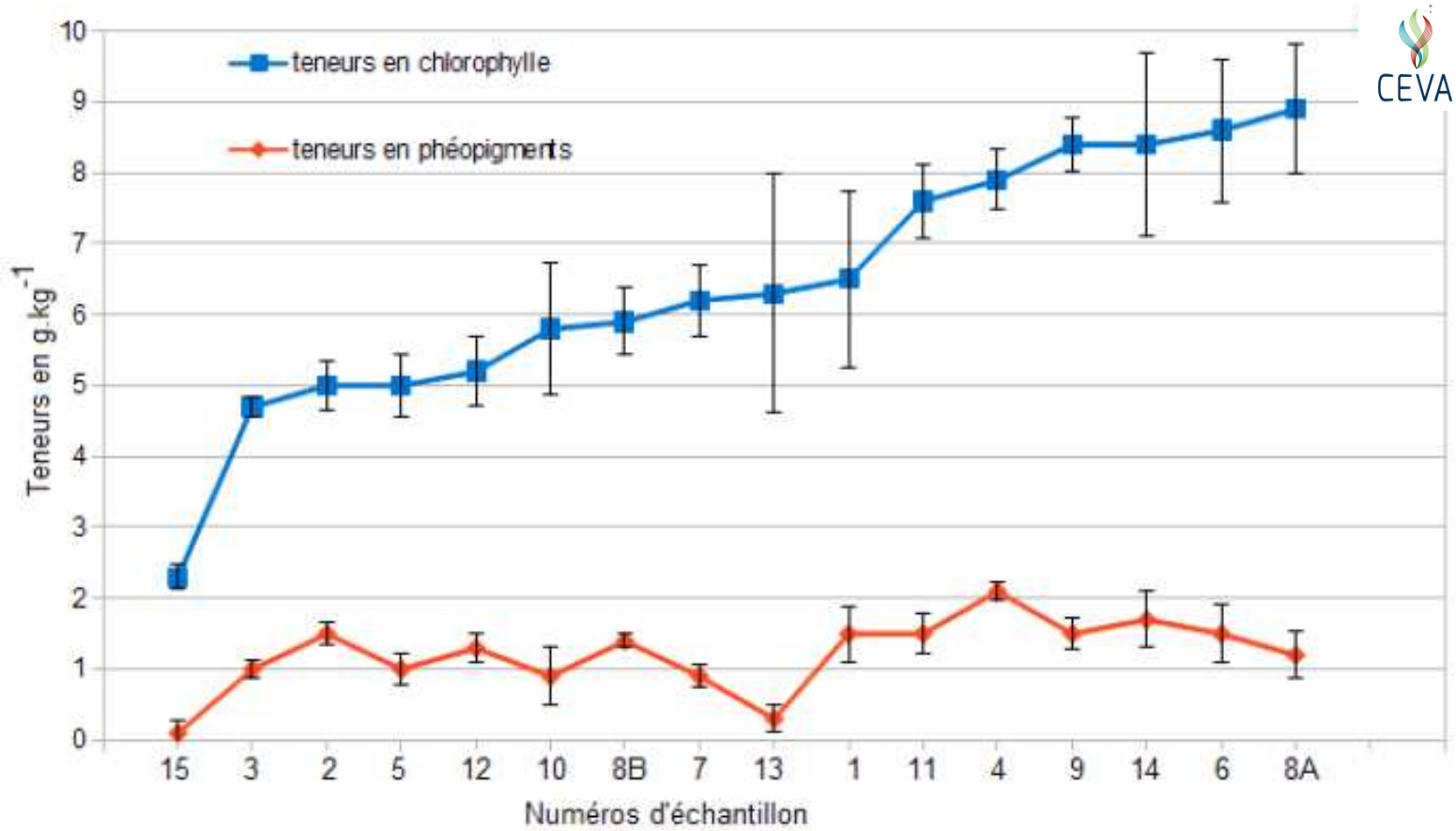
Dosage phéophorbide

- Résultats: influence du type de séchage
  - À partir de biomasse congelée (cultivée CEVA)

	Spiruline lyophilisée	Spiruline séchée à 50°C	Spiruline séchée à 80°C
Teneurs en chlorophylle ($g.kg^{-1}$)	**5,0**	**4,9**	**3,6**
Écart-type chlorophylle	0,01	0,15	0,05
Teneurs en phéopigments ($g.kg^{-1}$)	**0,8**	**0,9**	**1,9**
Écart-type phéopigments	0,15	0,08	0,09

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 3 : Dosage des phéophorbides</u>**
- Résultats : 15 échantillons reçus



Teneurs en chlorophylle et en phéopigments de chaque échantillon

Axe 4 : qualité produits

- **<u>Année 3 : Dosage des phéophorbides</u>**
- Conclusion : dosage par spectrophotométrie
  - Teneurs en chlorophylles varient de 2 à 9 g/kg
  - Teneurs en phéopigments : de 0.1 à 2 g/kg
    - Phéopigments = phéophytine + phéophorbide
    - Teneur en phéophorbide < phéopigments
    - Dosage semi-quantitatif : spectrophotométrique sans séparation des différents composés
    - Permet de screener échantillons, valider des modes de stabilisation
  - Pour aller plus loin : dosage par HPLC/Fluorimètre
    - Augmentation de la sensibilité de la méthode
    - Permet de valider la teneur en chlorophylle et phéophorbide avec précision

CEVA

CENTRE D'ÉTUDE & DE VALORISATION DES ALGUES

PRESQU'ÎLE DE PEN LAN . L'ARMOR PLEUBIAN . 22610 PLEUBIAN (FRANCE)
+33 (0)2 96 22 93 50
algue@ceva.fr
www.ceva.fr