## CULTIVA LA TEUA PRÒPIA ESPIRULINA

Traducció del llibre: MANUEL DE CULTURE ARTISANALE DE SPIRULINE de la versió de l'1 d'octubre del 2010.

Traducció finalitzada el 3 de gener 2014

Per veure l'última versió del document en la seua versió original: http://spirulinefrance.free.fr/Resources/Manuel.pdf

## **SUMARI:**

Notes de la traducció:	2
0) PRELIMINAR	3
1) QUÈ ÉS L'ESPIRULINA ?	4
2) INFLUÈNCIA DEL CLIMA	6
3) BASSES	8
4) MEDI DE CULTIU	
Ś) REPRODUCCIÓ INICIAL	28
6) ALIMENTACIÓ MINERAL DE L'ESPIRULINA	33
7) OPERACIÓ I MANTENIMENT DEL CULTIU	
8) COLLITA	61
9) ASSECAT	
10) CONSUM	
11) HIGIENE	76
12) ÚLTIMES RECOMANACIONS	
ANNEXES	

## Notes de la traducció:

Aquesta traducció ha estat possible gràcies a la col·laboració de: Anna B. , Anna P. , Gabriela, Helena, Ivan, Joan, Lyne, Rosa, Sílvia i Wifredo.

És un traducció no professional, que sorgeix des del voluntariat i amb ganes de fer créixer l'onada verd-i-blava.

Per qualsevol correcció podeu posar-vos en contacte amb l'equip de traducció a través de: xarxaespirulina@moviments.net

En la present edició sols s'han traduït alguns dels Annexos. Consultar pàgina 58 per veure quins. Per comprendre el funcionament del programa SPIRPAC es pot consultar la traducció al castellà al document: *Diseño de módulos de producción de espirulina a pequeña escala* disponible a l'apartat mediateca del web (enllac).

## 0) PRELIMINAR

L'objectiu d'aquest manual és el de formar formadors per a difondre i fer accessible a un major número de persones el cultiu d'espirulina, i ajudar als futurs "pagesos" a controlar un cert número de paràmetres per a produir a una escala familiar, cooperativa o comunitària un aliment que les seues qualitats nutricionals les quals són avui en dia reconegudes, però que són pràcticament inaccessibles, almenys en estat fresc. No es tracta de subministrar els elements necessaris per a una explotació que respon a criteris de rendibilitat comercial, especialment en països de mà d'obra cara, el procediment aquí proposat requereix molta mà d'obra pel fet de que el seu índex de mecanització és pràcticament nul.

Hem practicat el cultiu d'espirulina a petita escala des de l'any 1991 amb la finalitat de posar-la a l'abast d'aquelles que la necessiten veritablement. Desitgem que aquest document, basat essencialment en la nostra experiència personal o d'altres companys que treballen de forma similar, pugui iniciar-vos i guiar-vos en els vostres primers passos en aquest nou tipus de cultiu.

Us aconsellem d'iniciar el vostre cultiu a petita escala, per anar habituant-vos i comprendre millor els fenòmens naturals molt senzills, però no evidents, i finalment manipular les eines de treball que us seran molt més familiars si us les feu vosaltres mateixos.

Volem afegir que sense poder garantir la qualitat de l'espirulina produïda en tal lloc, sota tal clima, en certes condicions, el que sí que podem afirmar és que mai hem tingut coneixent d'un cas de toxicitat d'una espirulina produïda artesana en les latituds (entre -45 i 45°) on nosaltres hem estat treballant.

## 1) QUÈ ÉS L'ESPIRULINA?



És un petit ésser aquàtic (0,3 mm de llarg) vell com el món; el seu nom científic és "cianobacteri Arthrospira platensis" (no confondre amb el cianobacteri marí anomenat científicament "Spirulina Subsalsa"). Viu de la fotosíntesis com les plantes i s'estén naturalment en els llacs salats i alcalins de les regions càlides de la terra. Aliment tradicional dels asteques de Mèxic i dels Kanembous del Txad, i més rica en proteïnes que la carn. L'espirulina es cultiva actualment en grans fàbriques als EEUU, a l'Índia, a la Xina, a Tailàndia, etc., ja que sempre se li descobreixen més propietats interessants per l'alimentació i la salut, tant pels homes com pels animals. Per exemple, un nen que pateix de malnutrició pot recuperar-se donant-li una cullerada d'espirulina per dia durant un mes. L'espirulina reforça el sistema immunitari, alleugera el sofriment de les persones afectades pel Sida, i permet als tuberculosos suportar millor el seu tractament. L'espirulina també és utilitzada com ingredient actiu en cosmètica.

Per créixer en la natura l'espirulina només necessita una depressió argilosa que retingui l'aigua salubre i alcalina, un clima calorós, i alguns excrements d'animals. Els flamencs roses de l'espècie "minor" (els més nombrosos) proveeixen els excrements i l'agitació necessària per assegurar el creixement de l'espirulina, la qual és el seu aliment exclusiu, principalment en els llacs d'Àfrica de l'Est (Rift Valley).

L'espirulina es presenta en forma de filaments constituïts de cèl·lules juxtaposades. La reproducció de l'espirulina, asexuada, es fa per divisió binària dels filaments.

Si voleu més detalls sobre les característiques, les virtuts, la fabricació industrial i el mercat de l'espirulina, us adrecem a les obres més recents sobre aquestos temes, entre les quals hi ha el clàssic *Earth Food Spirulina* de Robert Henrikson, editat per Ronore als EEUU (1997), el de Jacques Falquet *Spiruline, Aspects Nutritionnels*, Antenna Technologie, Ginebra (2006) <a href="http://www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf">http://www.antenna.ch/documents/AspNutr2006.pdf</a> (pendent de traducció per la Xarxa Espirulina), D. Fox *Spiruline, Production & Potentiel*, Edicions Edisud (1999), sense oblidar *Spirulina Platensis (Arthrospira), Physiology, Cell biology and Biotechnology*, d'Avigad Vonshak, Edicions Tayol & Francis (1997). *Earth Food Spirulina* està disponible a <a href="http://www.spirulinasource.com/">http://www.spirulinasource.com/</a>

amb una actualització permanent. *Spirulina in Human Nutrition and Health*, de M.E.Gershwin i Ahma Belay, CRC Press (2008) està especialment recomanat.

La fàbrica hawaiana està descrita a <a href="http://www.cyanotech.com/">http://www.cyanotech.com/</a>.

Evidentment també cal veure les publicacions d'Antena Technologie a: www.antenna.ch.

## 2) INFLUÈNCIA DEL CLIMA

Els dos paràmetres fonamentals que més caracteritzen un clima són la temperatura i la pluviometria. Tampoc s'han d'oblidar els vents dominants, com és el mestral de la vall del Roine (*N. de la T: o la tramuntana de l'Empordà*), que poden tenir conseqüències importants en l'evaporació de l'aigua de les basses de cultiu o en la seva temperatura o contaminar-les per l'aport de pols i restes d'altres materials.

Igualment, altres elements com tanques, murs de pedra, boscos, etc., poden afectar significativament al microclima de les basses. És positiu d'avaluar aquestes interaccions abans de la instal·lació de la bassa tal com faríem per dissenyar un hort.

## 2.1) Temperatura

La temperatura de referència és la mateixa que per l'home, 37°C, que correspon a la temperatura ideal pel creixement de l'espirulina. Temperatures superiors als 37° són massa càlides (42°C poden ser mortals) i temperatures inferiors faran disminuir la velocitat de multiplicació (a 20°C el creixement és pràcticament nul). Així doncs, la temperatura del medi de cultiu s'ha de situar entre aquests dos valors. Com més llarga és l'estació càlida, més llarg és el període de collita. Els climes continentals o d'altitud seran poc adequats per aquest cultiu.

Els inconvenients d'un clima massa fred es poden compensar artificialment, igual que pel cultiu d'altres vegetals. La construcció de basses en hivernacles pot ser interessant no només perquè constitueix una protecció contra el fred, l'evaporació, els insectes i la pols, sinó també perquè protegeix de les pluges de més intensitat com les tempestes, que poden fer vessar les basses, provocant la pèrdua o una dilució del medi de cultiu.

## 2.2) Pluviometria

El bon funcionament de les basses de cultiu necessita un mínim d'aigua. Les aigües de pluja són interessants perquè són netes i neutres (no tenen minerals en dissolució). En climes de baixa pluviositat o amb una estació seca prolongada, pot ser necessari preveure una cisterna per emmagatzemar l'aigua de pluja i compensar així l'evaporació de les basses. Aquí també s'ha de trobar un terme mig. S'haurà de preveure un excés de precipitació construint basses més profundes o protegint-les. Com és evident, la falta d'aigua causa perjudicis irreversibles. La manca d'aigua de pluja es pot resoldre utilitzant-ne d'altres procedències (riu o riera, capa freàtica, aigües usades...). En aquests casos s'haurà de tenir en compte la qualitat de l'aigua en la posada en marxa i el posterior manteniment del medi de cultiu.

Una bona solució a les regions de fortes precipitacions pot ser una coberta translúcida tapant les basses per evitar una dilució del medi de cultiu (veure capítol 3.2 cobertura).

#### 2.3) El clima ideal

Hi ha climes ideals on no fa mai fred i on les pluges estan repartides homogèniament compensant l'evaporació, com per exemple en certs punts de la vessant est dels Andes. Un altre tipus de clima ideal és el desert al peu de muntanyes que asseguren un ampli aprovisionament d'aigua, com el desert d'Atacama a Xile.

L'aigua que es consumeix per evaporació a les basses serveix sobretot per mantenir el cultiu per sota dels 40°C. En un clima desèrtic, sense aigua, el cultiu és impossible (excepte si se n'aporta). De la mateixa manera, hi haurà cultius que consumiran poca aigua com els d'hivernacles en climes frescos

## 2.4) Estacionalitat (veure l'Annex A25 "hivernada")

En regions temperades l'hivern és generalment massa fred per cultivar-hi l'espirulina, excepte amb calefacció i il·luminació artificials massa costosos. Igualment, en regions càlides pot ser necessària una parada anual degut a la importància estacional de les pluges, la sequera o els vents carregats de sorra.

Així doncs, sovint el cultiu de l'espirulina serà estacional.

Durant l'estació desfavorable, la soca d'espirulina haurà de ser conservada en el seu medi de cultiu. Els contenidors (pots, bombones, basses) hauran de deixar passar la llum i ser emmagatzemats en un lloc il·luminat però a l'ombra, o en llocs amb il·luminació artificial (llum elèctrica). Inclús si el cultiu d'espirulina sobreviu a temperatures inferiors als 10°C (o a gelades breus) és prudent de no emmagatzemar-lo per sota dels 18°C durant llargs períodes, ja que els riscos de contaminació augmenten.

El fet que l'espirulina es desenvolupi en un medi molt alcalí (molt bàsic) presenta dos grans avantatges:

- Millor absorció del diòxid de carboni (CO<sub>2</sub>).
- Protecció contra contaminacions per part d'altres éssers vius.

Aquesta protecció deguda a l'alcalinitat ens va ser demostrada involuntàriament la primavera de 1997. Teníem al costat dues basses d'espirulina de  $10\text{m}^2$ , una a l'aire lliure i l'altre protegida de la pluja. La bassa que no estava protegida, que havia sobreeixit, va ser buidada i reomplerta d'aigua de pluja. Aquesta va ser colonitzada per algues verdes unicel·lulars (Chlamudomones) i nombrosos animals (cucs vermells, larves de mosquits i insectes nedadors). L'altra bassa va mantenir les espirulines sense contaminar. De totes maneres, hem de tenir en compte que no només és l'espirulina qui pot créixer al medi de cultiu; altres algues, microorganismes i animals hi poden viure, cosa que fa necessària la supervisió dels cultius des del punt de vista dels contaminants, sobretot durant els canvis d'estació.

## 3) BASSES

On posar les basses? S'han de respectar algunes regles no sempre evidents: mai sota dels arbres, ni en llocs inundables, ni prop de carreteres ni indústries (contaminació). A l'abric del curiosos sovint ignorants i no sempre ben intencionats. Un terreny pla facilitarà la feina, així com la proximitat de l'aigua, etc. Val la pena pensar-ho abans de decidir-ho.

#### 3.1) Construcció de les basses de cultiu

Unes basses petites poden ser suficients per una producció familiar o artesanal, sense agitació de roda de pales i sense xicana al mig (produccions comercials). En aquests casos, hi ha moltes maneres de construir les basses adequades, variables segons les condicions locals.

La bassa no ha de tenir angles gaire pronunciats, sinó formes arrodonides (almenys en els extrems, en el cas de basses rectangulars). El fons ha de ser el més pla possible, amb un pendent molt lleuger cap al lloc més profund i d'accés fàcil (per facilitar el buidat). Les vores de la bassa han d'estar per sobre el nivell del sòl per reduir l'entrada de pols i d'animals i tenir com a mínim de 20-40 cm de profunditat. És millor dissenyar una bassa massa profunda que massa poc profunda (per retenir les pluges, facilitar les transferències entre basses i una eventual depuració biològica del medi de cultiu). Les basses, sobretot les més profundes, han d'estar protegides i fora de l'abast dels nens petits. També s'ha d'intentar que no es confonguin amb abocadors, cosa que pot passar, per mala sort, com ja ha passat en diversos països.

Una de les dificultats més grans que s'ha de superar en la preparació de les basses és l'aplanament del fons. De fet, és aquí on un artesà que només disposi d'eines ordinàries (pic, rasclet, regle i nivell) estarà més limitat pel que fa a la superfície utilitzable. Per les basses grans, les empreses utilitzen el làser, que facilita la feina.

Una altra variant que no es descriurà aquí perquè està poc adaptada a les condicions artesanals, consisteix en fer el cultiu en un làmina d'aigua que s'escola per un pla inclinat.

#### 3.1.2) En lones de plàstic.

Es recomana un gruix de lona mínima de 0,25 mm, preferentment 0,5 mm. El film (PVC, polietilè, EVA [etilè-vinil acetat], teixit revestit amb PVC o PP, cautxú EPDM) de qualitat alimentària (o almenys no tòxica) i resistent als rajos ultraviolats pot estar fixat simplement amb un marc de fusta o amb tubs d'acer o PVC, o sostingut per un petit mur amb planxes, maons, perpany, fins i tot no cimentats, tàpia (fang, pedres i palla). Si hi ha risc d'atac de rosegadors es pot solucionar amb un muret prefabricat o de fusta. Sempre que es pugui, en els angles s'han d'evitar els plecs que donin lloc a zones que no es podran ni agitar ni airejar bé. Es recomana encimentar la superfície que suporta la bassa o cobrir-la amb una capa de grava i sorra o laterita mòlta ben compactada. Si s'ha d'utilitzar film de plàstic més fi, s'ha de protegir del contacte directe del sol i l'obra, per exemple amb feltre de tipus "geotèxtil" o dues o tres capes de film usat. Hi ha un film de PVC, de qualitat alimentària d'1,2 mm de gruix i 2 m de llarg que pot ser muntat per soldar amb una pistola d'aire

calent especial (es necessita electricitat). El film de cautxú EPDM, que es pot enganxar, es una bona solució, però una solució "de luxe". Els films gruixuts soldables o encolades redueixen els plecs i faciliten la instal·lació d'una xicana central soldable o encolades al fons de la bassa, però aquests tipus de film no solen ser utilitzats pels petits productors.

Per la instal·lació, s'ha de tenir en compte l'alt coeficient de dilatació tèrmica dels films de plàstic (en cas d'instal·lació en dies de calor, hi haurà retractació important en dies freds, i viceversa).

En cas d'utilitzar un film de qualitat desconeguda s'ha de fer analitzar per comprovar que sigui alimentari o almenys no tòxic i també s'ha de fer un cultiu de prova per comprovar que, efectivament, no sigui tòxic i que resisteixi el medi de cultiu (veure qualitat).

Si hi ha tèrmits, es recomana posar un llit de sorra sobre una capa de cendres a sota el plàstic i utilitzar un muret prefabricat, o almenys tractar la fusta, a no ser que es disposi d'una fusta que per la seva naturalesa ja no és atacable. També es pot posar el film sobre una llosa d'argila assecada, de ciment o protegir-la amb metall. No s'ha d'oblidar que alguns tipus de gramínies són capaces de foradar el plàstic. Es poden donar casos on no hi hagi fuita d'aigua però hi hagi un foradet petit al plàstic tapat per si sol.

Es pot reparar un foradet amb màstic negre que es ven en ferreteries o fins i tot amb un "pedaç" de cinta adhesiva resistent a l'aigua.

Els rosegadors poden ser perills temibles per les basses de films de plàstic no protegides. Durant anys, no he tingut aquest problema a Mialet. Tot i això després de l'hivern 2000-2001 (molt suau) van aparèixer múltiples forats a les vores no protegides de quatre basses. Hi ha aparells elèctrics que repel·leixen de manera eficaç els rosegadors.

Per buidar i netejar una bassa feta amb una lona de plàstic aguantada per un muret prefabricat, la manera més fàcil de fer-ho és abaixant l'extrem de la lona aprop del punt de buidat (pou mort).

Foto de les primeres basses (en teixit de poliamida revestit amb PVC) de l'Ecopark, Madurai, Tamil Nadu (Índia), 18 m², 1998:



#### 3.1.3) En dur (formigó, perpany, maons)

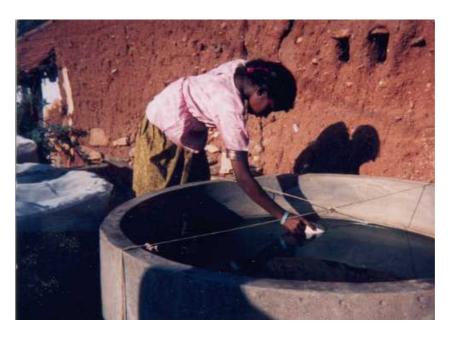
El fons d'una bassa de ciment s'ha de construir en forma de llosa de formigó armat de 10 cm de gruix com a mínim, de molt bona qualitat, sobre un terreny ben compacte. Les vores de la bassa poden ser de totxanes, perpany o de formigó armat. Eviteu els angles gaire pronunciats. Penseu en impermeabilitzar-lo (un coadjuvant impermeabilitzant o una pintura epoxi són pràcticament indispensables, o sinó pintar la capa de ciment amb calç – en aquest cas, primer situar la calç abans de posar-la en aigua). És aconsellable esperar alguns dies, amb la bassa plena d'aigua, abans de poblar-la d'espirulines (sinó, l'alcalinitat de la calç o del ciment fresc pot esgrogueir les espirulines molt ràpidament). Hi ha tècniques per a construir basses molt llargues (de 50 a 100 m) sense juntura de dilatació. La combinació formigó-film de plàstic també és una solució, sigui perquè el film forra el formigó per impermeabilitzar-lo o perquè una part de la bassa és de film de plàstic i l'altre de formigó (amb connexió formigó-film com ha utilitzat amb èxit Bionor a Xile). Les esquerdes del formigó poden arreglar-se amb massilla de silicona.

#### Fotos:

- Cals "Pères Camiliens" a Davougon (Benin), 8 m2, 1994:



- En un poble a prop de Maduraï, Tamil Nadu (Índia), 1m2, 1996:



#### 3.1.4) D'argila (si no hi ha cap altra alternativa)

Cavar uns 20 cm i fer un talús ben consolidat també de 20 cm. Si el terreny no és de naturalesa argilosa, cobrir la superfície del forat amb una capa d'argila humida i de bona qualitat, de 3 a 5 cm de gruix, ben compactada per evitar les esquerdes. Cobrir les vores amb teles o totxanes cuites, o amb plàstic per evitar les esquerdes quan hi hagi baixades de nivell. L'espirulina creix molt bé dins de basses d'argila, però la seva puresa bacteriològica ha de ser controlada de prop (s'incrementa el risc de presència de microorganismes anaeròbics al fons). La impermeabilització no és total, però es pot millorar amb un film de plàstic, encara que sigui molt fi.

#### 3.2) Cobertura de la bassa de cultiu

Quan no hi hagi protecció a sobre la bassa es recomana una bona agitació. D'altra banda, també són necessàries una bona disponibilitat d'aigua (per compensar l'evaporació), l'absència de pluges torrencials (pluges de més de 200 mm/dia) i baixes temperatures.

Sovint és útil, o fins i tot necessari, instal·lar un hivernacle o almenys un sostre sobre la bassa que permeti deixar "respirar" a la bassa i a la vegada protegir-la dels excessos de pluja, el sol, el fred, la caiguda de fulles, les caques d'ocells, els vents que porten terra i altres restes diverses de materials. El sostre pot ser una tela de tenda blanca o d'un teixit de poliamida revestit amb PVC blanc, que deixi passar una part de la llum però que sigui capaç de protegir de la pluja. També pot ser de plàstic translúcid: film de polietilè tractat anti-raigs UVA utilitzat per la construcció d'hivernacles hortícoles o plaques de policarbonat o fibra de vidre-polièster (per evitar que les fibres surtin). Si el sostre és opac, s'ha de posar prou amunt com per què la bassa rebi llum dels costats. A vegades el sostre està acabat amb una mosquitera pels costats. Si la quantitat de pluja és acceptable, el sostre es pot substituir per una coberta que només faci ombra (xarxa per fer ombra, canyís, fulles de palmera trenades). El sostre pot ser flotant si la bassa és massa ampla com per poder-hi construir una estructura fixa que el suporti.

Instal·lar un hivernacle consisteix en cobrir la bassa d'un film translúcid amb una pendent i tensió o amb suports suficients com per evitar l'acumulació de bosses d'aigua de pluja i resistir a les tempestes. El film es pot aguantar amb estructures rígides, amb filferros o amb filats (per sobre i a

vegades també per sota). S'han de dissenyar també orificis d'accés o d'airejat i protegir-los amb mosquiteres. També es fa necessari, en general, preveure dispositius per fer ombra (xarxa de plàstic teixida de color negre, preferentment per sota el plàstic translúcid per tal de protegir-lo). La fusta no tractada i l'acer galvanitzat són materials acceptables per les estructures dels hivernacles. Evitar els cargols amb cadmi (amb reflexos grocs). Evitar també tota pintura que no resisteixi bé al medi de cultiu (la pintura epoxi és recomanable). Es prohibeixen les pintures anti-rovell a base de mini (tetraòxid de plom o bé plom vermell). Posar-lo i tensar-lo en dies calorosos per evitar que, més endavant, es destensi quan faci calor. Cal afegir que certs tipus de fusta poden ser atacats pel medi de cultiu i que certs països en prohibeixen la utilització a la industria o l'artesania alimentària.

Una manera econòmica de construir una bassa en un hivernacle consisteix en fer un muret amb elements rígids (perpanys o totxanes, amb ciment o no, planxes de fusta aguantades amb cargols sobre de piques d'acer), posar el film impermeable recobrint el muret i enterrar-lo pels extrems i finalment tensar per sobre un plàstic d'hivernacle també enterrat pels seus extrems. Per evitar que l'aigua de pluges violentes no s'acumuli al plàstic d'hivernacle n'hi ha prou en instal·lar-lo amb una mica de pendent (4%) i tensar-lo bé (en calent) com una membrana d'un tambor o la lona d'un paraigües. La pendent es pot aconseguir utilitzant bigues o cabirons de fusta formant una estructura baixa sobre la bassa (si la fusta està autoritzada). Alerta: amb una pendent feble possiblement l'hivernacle no resistirà cap pedregada ni nevada importants. Per aconseguir una bassa d'aquestes característiques i airejar-la és necessari instal·lar una porta d'accés en almenys un punt de l'hivernacle (preferentment dos), consistent en un simple quadre vertical sobre el qual arribi el film, que aquí no estarà enterrat. La porta es pot tancar amb una mosquitera (tant per evitar l'entrada d'insectes com de fulles mortes). Dissenya la construcció de manera que la component horitzontal de la tensió del film no faci tombar el muret.

El procediment més econòmic de construcció d'una bassa amb hivernacle utilitza el mateix plàstic d'hivernacle pel fons, els costats i la coberta. Amb el plàstic d'hivernacle d'amplada estàndard (6,5m) es poden construir fàcilment basses de fins a 30 m². La coberta pot fer-se amb un cabiró de fusta de 6 per 8 cm, de 5 m de llargada fixat a aproximadament 1,5 m d'alt. El plàstic s'ha de grapar a la coberta pels dos extrems per fixar-lo finalment amb falques a la coberta. Als dos extrems s'hi construeix una vora amb posts d'empostissar (planxes de fusta) o perpany, sobre la qual s'hi fixa fortament l'extrem del plàstic i s'hi habiliten dues portes d'accés on s'hi posaran mosquiteres. El cost dels materials arriba als 5 \$/m² si la capa inferior de protecció és de film de plàstic re-utilitzat, sense incloure l'ombrejat, la protecció lateral i l'agitació. De fet, la protecció lateral es recomana per evitar danys causats sobretot pels animals. S'ha de construir almenys a 50 cm de les vores en el cas que es tracti d'un material bast que pugui malmetre el plàstic si es mou per culpa de les ventades.

Per assegurar l'estabilitat de l'estructura enfront a ventades, s'ha d'emplenar la bassa almenys 20 cm. Es recomana no deixar els costats de la bassa exposats a la llum, ja que això podria afavorir el desenvolupament d'algues invasores a les parets il·luminades. Aquest tipus d'hivernacle permet la recuperació automàtica de l'aigua que es condensa al plàstic d'hivernacle (procés nocturn important sobretot en climes desèrtics). Exemple d'un muntatge de 20m². (Mialet, any 2000):



La utilització de plàstic d'hivernacle planteja un problema de qualitat alimentària. Però no sembla que hi hagi d'haver problema. Segons quins plàstics (els que són lleugerament grocs) són estables contra els rajos ultra violats gràcies a un component a base de cadmi. Segons els nostres anàlisis, el cadmi no passa del plàstic cap al medi de cultiu i no contamina en cap cas l'espirulina.

Una bassa en un hivernacle suficientment hermètic, gràcies a la seva atmosfera controlable, presenta l'avantatge de poder ser alimentat en CO<sub>2</sub> provinent de la combustió d'un gas o d'una fermentació (compost).

Un hivernacle que li puguem proporcionar ombra i airejar-lo és ideal per a tots els climes, ja que permet un control màxim tant de la temperatura, de la llum, de la pluja i de l'evaporació com dels insectes, altres animals, pols i fulles mortes. És la protecció més eficaç per reduir el màxim possible el consum d'aigua en un clima àrid.

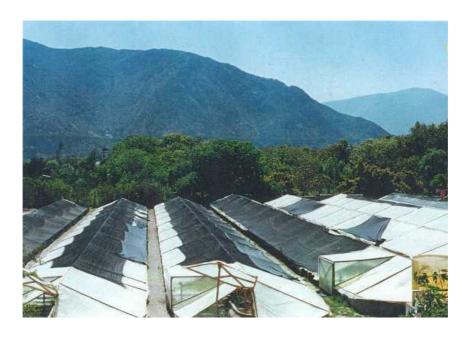
En els cultius d'un hivernacle, en general no s'hi implanten larves. En cas d'infecció s'ha de deixar simplement que la temperatura pugi a 42 o 43 °C el temps suficient perquè mati les larves.

Fotos:

Basses de 50 m2 en hivernacles a cal José Vitart, Mialet, 1998:



• Bionor, prop de La Serena, Vall de Elqui (Xile), 1997:



## 3.3) Nombre i superfície de basses:

És millor construir dos o més basses petites que una de gran. D'aquesta manera, en podrem buidar una (per netejar-la o arreglar-la, per exemple) sense perdre el seu contingut. I si un dels cultius es contamina, està malalt o mor, l'altra permetrà continuar i tornar a repoblar la bassa. També pot ser pràctic de treure l'aigua d'una bassa per filtrar-la sobre l'altra bassa. Per altra banda, també pot ser útil una bassa de "recanvi" per preparar els medis de cultiu i fer els transvasaments o per evaporar les purgues per tal de reciclar les sals o també per depurar el medi de cultiu; tot i això no és indispensable.

1 m² de bassa cobreix les necessitats en espirulina d'una a cinc persones, segons la dosi. El cost de la inversió per 1 m² decreix quan augmentem la superfície unitària i la relació superfície/perímetre de les basses. Per contra, les basses estretes (amplada inferior a 3m) son més fàcils d'agitar i de cobrir. Una superfície unitària de 5 a 20 m² sembla pràctica a nivell familiar o per un consultori (segons la dosi diària d'espirulina i segons la productivitat de les basses). Per una producció artesanal, la superfície total de les basses no superarà els 50 o 100m², però a nivell "semi-artesanal" és factible poder passar fins i tot els 1000 m² (Annex 28).

## 3.4) Agitació de la bassa

L'agitació és necessària per homogeneïtzar el cultiu, afavorir l'eliminació de l'oxigen i assegurar una bona repartició de la llum per totes l'espirulina. Excepte en els casos on el Sol sigui molt fort, a molt estirar, n'hi pot haver prou amb agitacions discontínues, més o menys freqüents (alguns minuts a l'hora almenys 4 vegades al dia) manuals, amb una escombra, un rem o amb bombes que no facin malbé l'espirulina. (bombes amb hèlices, vis, pales, diafragmes o vòrtex.

Una bomba d'aquari de tracció magnètica de 800 l/h, 8 Watt, que funcioni 15 minuts cada hora o cada mitja hora (amb un programador de rellotge) ja és suficient per agitar de 5 a 10 m² si està ben col·locada (orientació del seu raig correcta, emplaçament i azimut) i si les vores de la bassa són regulars i els seus angles arrodonits. Una xicana mitjana pot facilitar la circulació, però en general fa falta completar-la amb xicanes que re-dirigeixin els fluxos de les vores cap al centre, cosa que

complica la instal·lació. En basses petites amb dimensions ben escollides, la xicana central no fa falta. La instal·lació d'una xicana mitjana a les basses de lona de plàstic (recobrint la xicana) pot provocar el problema dels plecs, que s'han d'evitar al màxim. El problema es redueix si la xicana és de poca alçada (20 cm) i amb els extrems arrodonits. Però alguns prefereixen xicanes fixes sobre plaques de marbre o de granit posats a sobre la lona. En aquest cas, cal vetllar per minimitzar el pas sota la xicana. Una altra manera de fer la xicana consisteix en soldar una banda de lona al fons i sostenir-la amb cordills a l'estructura de l'hivernacle. Es pot millorar l'eficàcia de les bombes fent passar el seu raig dins un tub Venturi, però això en complica la instal·lació i només es recomana en casos d'alimentació fotovoltaica.

De tant en tant, s'han de netejar els filtres i els racons de les bombes (jo prefereixo treure la tapa, que només serveix per adornar les bombes de l'aquari). Amb les soques "ondulades" (Paracas) les bombes hidràuliques ordinàries es poden utilitzar sense risc de trencar els filaments. Una bomba d'aquestes característiques pot agitar una bassa quadrada o rodona de 50 m², però aquestes bombes no són de tracció magnètica i porten una junta que pot provocar problemes d'impermeabilitat i de corrosió al cap d'un temps). Atenció: les bombes de 220 Volts necessiten proteccions per evitar electrocucions, sobretot en hivernacles humits (els instal·ladors de bombes d'aquari demanen que es desendolli abans de tocar l'aigua). Es recomana endollar el sistema d'alimentació elèctric en un transformador amb pantalla d'aïllament amb presa de terra (sistemes utilitzats per els endolls de les màquines d'afaitar a les sales de bany). Podem completar la seguretat amb un disjuntor diferencial de 30 mV. És preferible utilitzar bombes de 12 o 24 Volts.

És millor una agitació discontínua i enèrgica que contínua però feble. Igualment, una agitació enèrgica serà més eficaç si és intermitent, ja que a cada posada en marxa es barreja el líquid mentre que, en continu, la massa d'aigua té tendència a desplaçar-se en bloc (excepte si s'instal·len xicanes de través, tallant el corrent). Agitar amb escombra almenys una vegada al dia és una bona pràctica, sobretot si es fa prou profundament.

Les grans basses industrials, molt llargues, estan sempre equipades d'una xicana mitjana i agitades amb una roda de pales. La seva superfície unitària màxima és de 5000 m². la tècnica de construcció de les rodes de molí mereix un capítol especial; no serà tractat aquí sinó que serà abordat de manera breu a l'annex 24.

Els cultius en una làmina d'aigua en un pla inclinat (veure capítol 3.1) s'agiten per la mateixa turbulència que es dóna en l'escolament de l'aigua.

Un altre tipus d'agitació: una tapa amb entrada d'aire comprimit, que s'aplica bé a les basses petites prou profundes, preferentment rodones. Consisteix en fer arribar un cabal d'aire comprimit (d'un compressor d'aquari) sota una tapa acampanada pesada deixada al fons de la bassa (una plata de pirex també serveix). L'aire forma grans bombolles que fan que la tapa pugi i baixi d'un costat, a intervals regulars. Quan baixa, la tapa produeix un cert moviment del líquid. En una bassa rodona de 7m², un compressor de 300 l/h funcionant contínuament produeix una agitació adequada. Un avantatge d'aquest mètode d'agitació és l'absència de fils elèctrics. A la pràctica, aquest tipus d'agitació està limitat als gibrells o a les basses més petites, per ser realment molt útil.

Cal insistir en el fet que el medi de cultiu és molt corrosiu pels metalls. Pràcticament, només l'acer galvanitzat i l'inox tipus 304 resisteixen de manera acceptable.

#### 3.5) Contenidors, gibrells, fundes.

Pot passar que en comptes de construir petites basses, s'utilitzin recipients translúcids com ampolles, bombones, fundes de film de plàstic, contenidors de sucs de fruita (n'hi ha de 1000 litres). Cal saber que la velocitat de fotosíntesi semblarà superior en aquests recipients perquè el medi de cultiu rep la llum de més costats i s'escalfa també més ràpid. Això pot suposar un avantatge, però cal supervisar la temperatura i el pH més minuciosament que amb les basses típiques. L'agitació d'aquests recipients es fa preferentment per aire comprimit (compressor d'aquari).

Nota: es tracta en aquest cas de variants de "fotobiorreactors" amb una alta relació superfície/volum.

## 3.6) Reparació dels films de plàstic

Es poden reparar petits forats al film. S'ha de netejar i assecar la zona del voltant del forat, després enganxar-hi un producte tou i adhesiu (de qualitat alimentària) venut per aquest ús, semblant a un xiclet. El PVC es pot reparar també amb pegats (pedaços) enganxats o soldats, o amb cintes adhesives resistents a l'aigua. Algunes cintes adhesives s'apliquen també als films de polietilè. Atenció: cal utilitzar productes de qualitat alimentària.

## 4) MEDI DE CULTIU

[NB. Existeix un programa que facilita els càlculs pel medi i l'aliment; veure al final d'aquest capítol]

## 4.1) Preparació del medi de cultiu

L'espirulina viu en aigua salada i, al mateix temps, alcalina. L'aigua utilitzada pel medi de cultiu ha de ser preferentment potable (però que no faci olor forta de clor) o com a mínim filtrada (amb filtre o sorra), el més important és l'eliminació d'algues foranies. L'aigua de pluja, de deus (fonts), o de pou és normalment d'una qualitat adequada. Si l'aigua és dura, apareixeran fangs minerals (més o menys abundants segons el contingut de calci, magnesi i ferro) que decanten ràpidament i no són particularment molestos pel cultiu, sempre i quan partim d'un cultiu inicial ben concentrat en espirulina.

Els límits permesos de salinitat i alcalinitat (=basicitat, els dos termes es poden intercanviar) són bastant amplis però generalment ens situarem en els mínims, per raons d'economia (excepte si els materials per alcalinitzar són barats), és a dir a una salinitat total de 13 g/litre i una alcalinitat de 0,01 molècula-gram/litre (b=0,1); però aquestes concentracions poden duplicar-se sense cap inconvenient. També pot ser adequat treballar a un nivell d'alcalinitat duplicat per atenuar les fluctuacions de pH a partir de migdia, sobretot en la superfície o en els angles de la bassa de cultiu quan l'agitació és deficient. Un cas on b=0,2 és preferible; és aquell en què iniciem el cultiu en una bassa oberta durant l'estació seca: la dissolució degut a la pluja podrà reduir b envers 0,1 o fins i tot menys si estem en l'estació de pluges.

L'alcalinitat és aportada habitualment pel bicarbonat de sodi, però aquest últim pot ser reemplaçat en part per la sosa càustica o el bicarbonat de sodi; que tenen a més a més l'avantatge d'augmentar el pH inicial del medi de cultiu (per exemple 5 g/l de bicarbonat de sodi + 1,6 g/l de sosa donen un pH de 10); el carbonat de sodi o la sosa càustica poden fins i tot ser la única font d'alcalinitat sempre i quan es bicarbonitzin amb gas carbònic o s'exposin a l'aire abans de ser utilitzades [atenció en no confondre la sosa càustica i els "cristalls de sosa" de les botigues que són bicarbonat de sodi decahidratat] El natró o trona també pot ser utilitzat (veure apartat "natron"). La salinitat complementària és aportada pels diferents fertilitzants i per la sal (clorur de sodi). La sal de cuina iodada i fluorada pot servir però sovint conté fins a un 2% de magnesi insoluble: és millor utilitzar una sal que no en contingui, per evitar un excés de fangs minerals. Igualment si la sal aporta massa magnesi soluble, hi haurà formació de sals minerals insolubles, sobretot amb el pH bastant elevat; fangs minerals excessius poden ser molt molestos per un cultiu que s'inicia amb poca concentració d'espirulina: aquesta és fàcilment arrossegada per les partícules de fang del fons de la bassa sense que puguem recuperar-la. És també una raó a favor de no afegir calci al principi d'un nou cultiu. Per contra l'ús de sal poc refinada és recomanat degut a la quantitat d'oligoelements benèfics.

A més a més de sal i sosa, el medi de cultiu conté fertilitzants per assegurar el creixement de l'espirulina, com en l'agricultura habitual: nitrogen (N), fòsfor (P), potassi (K) són els tres principals elements, però el sofre (S), magnesi (Mg), calci (Ca) i ferro (Fe) també hauran de ser afegits si l'aigua, la sal i els fertilitzants no els aporten en quantitats suficients. Una anàlisi de l'aigua i de la sal és útil per calcular la dosi de Mg, Ca i Fe a afegir ja que un excés d'aquests elements pot ser nociu (pèrdua de fòsfor soluble, formació de fangs). L'aigua, la sal i els fertilitzants aporten sovint oligoelements suficients (bori, zinc, cobalt, molibdè, coure, etc.), però com que aquestos són cars a l'hora d'analitzar, és preferible, quan sigui possible, afegir sistemàticament com a mínim els principals oligoelements.

Les fonts de nitrats preferides per l'espirulina són l'amoníac i la urea, però aquestos productes són tòxics si es troben en concentracions superiors a uns límits (la urea s'hidrolitza a poc a poc en amoníac). Aquest és el motiu pel que sovint es prefereix, com a mínim quan es prepara el medi de cultiu, utilitzar nitrat, el qual pot ser introduït en elevada dosi sense perill, constituint així una reserva de nitrats a llarg termini. Inicialment l'espirulina consumeix l'amoníac o la urea si n'hi ha de disponible. Una olor lleugera i passatgera d'amoníac ens adverteix que ens aproximem al límit autoritzat; una olor persistent i forta indica que segurament l'hem superat i cal esperar un mal estat del cultiu (passatger o irreversible segons la dosi d'amoníac).

Pot succeir que l'espirulina alimentada amb urea perd la capacitat de consumir el nitrat. Si utilitzem una soca com aquesta, s'haurà doncs d'iniciar un cultiu amb urea però sense superar les dosis permeses, és a dir que s'haurà de introduir a petites dosis freqüents (guiant-se per l'augment de la quantitat d'espirulina de la bassa: posar 0,3 grams d'urea per gram d'espirulina produïda.

Nota: la urea és el nom comú del metandiamida; algunes persones confonen urea i orina, i ja que poden experimentar certa repugnància a menjar espirulina produïda amb "urea", pot ser preferible reemplaçar el terme "urea" pel seu homònim científic: metandiamida, que també és correcte però menys evocador. No obstant això, la urea és un producte molt apropiat i inodor, molt utilitzat en agricultura, i generalment molt disponible en el Tercer Món.

El nitrat no està exempt de riscos ja que es pot transformar espontàniament en amoníac en certes condicions (en presència de sucre per exemple, i, sense cap mena de dubte, d'exopolisacàrids

secretats per la mateixa espirulina. Viceversa, l'amoníac (que prové de la urea per exemple) s'oxida més o menys ràpidament en nitrat pel fenomen natural conegut amb el nom de nitrificació.

El fòsfor es aportat indiferentment per qualsevol ortofosfat soluble, per exemple el fosfat mono amònic (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), el fosfat dipotàssic (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) o el fosfat trisòdic (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 12H<sub>2</sub>O), o fins i tot el mateix àcid fosfòric. De totes maneres el potassi pot ser aportat indiferentment pel nitrat de potassi, el clorur de potassi, el sulfat o el fosfat dipotàssic. La font de magnesi habitual és el sulfat de magnesi anomenat sal d'Epson (MgSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O).

El calci eventualment necessari és aportat per una mica de calç apagada o de guix (sulfat de calci), o, millor, per sal de calci soluble (nitrat, clorur); cal posar-ne suficient per saturar el medi en calci a pH al voltant de 10, però no més, és a dir, fins a la formació d'una lleugera terbolesa blanca. En cas d'inici d'un nou cultiu amb poca espirulina, es millor abstenir-se d'afegir calci al principi per evitar perdre la llavor que és arrossegada pels fangs minerals.

[**Observació:** Afegir petites quantitats de productes àcids (àcid fosfòric per exemple) en un medi que conté bicarbonat de sodi i carbonat de sodi no redueix la seva alcalinitat però redueix el seu pH, és a dir, transforma una part del carbonat en bicarbonat de sodi sense pèrdua de CO<sub>2</sub>. Això també s'aplica als afegits quan preparem medi de cultiu o quan afegim aliment a un cultiu. Però si preparem una barreja on l'aportació d'àcid és important, hi haurà pèrdua d'alcalinitat i de CO<sub>2</sub>, fet que és una llàstima. Ja que és posar àcid directament a la bassa.]

Indicarem la possibilitat d'aportar diversos elements a la vegada pel mateix producte, per exemple N i K amb el nitrat de potassi, P i K amb el fosfat dipotàssic, o S i Mg amb el sulfat de magnesi.

Veiem la importància de disposar de nocions de química per poder utilitzar amb destresa els diferents productes segons la seva disponibilitat i el seu preu. En resum és suficient conèixer els pesos moleculars i fer regles de tres. També podem prescindir del concepte de pes molecular i treballar només amb els percentatges d'elements donats a l'Annex A16

El ferro és aportat per una solució de sulfat de ferro acidificat, preferentment d'àcid cítric, o per ferro associat a un quelat com es ven normalment pels usos agrícoles.

No utilitzar els fertilitzants agrícoles ordinaris ja que previsiblement són poc solubles (i contenen nombroses impureses), però es poden utilitzar els fertilitzants solubles (veure capítol 6.1, N.B.) o els productes químics purs corresponents. En cas de dubte, analitzar l'espirulina produïda per verificar que no conté massa mercuri, plom, cadmi, o arsènic).

Els límit de concentració admissibles dels diferents elements en el medi de cultiu estan determinats a l'Annex 18. Aquí tenim un exemple d'anàlisi de medi de cultiu típic d'una bassa en curs de producció:

Carbonat = 2800 mg/l

Bicarbonat = 720 mg/l

Nitrat = 614 mg/l

Fosfat = 25 mg/l

Sulfat = 350 mg/l

Clorur = 3030 mg/l

Sodi = 4380 mg/l

Potassi = 642 mg/l

Magnesi = 10 mg/l

Calci = 5 mg/l

Amoni + amoníac = 5 mg/l

Ferro = 1 mg/l

Salinitat total = 12797 mg/l

Densitat a  $20^{\circ}$ C = 1010 g/l

Alcalinitat = 0,105 N (molècula-gram/l)

pH a  $20^{\circ}$ C = 10,4

El medi a més a més ha de contenir tots els oligoelements necessaris, aportats normalment per l'aigua i per les impureses de les sals, però és prudent, quan podem, afegir un complement, com a mínim pel que fa al zinc (veure l'Annex 26). Una mica d'argila pot ser un complement útil.

Aquí hi ha una fórmula per un medi de cultiu nou (pH proper de 8, veure capítol 4.7: ph) que convé quan la duresa de l'aigua és nul·la o feble:

Bicarbonat de sodi = 8 g/l

Clorur de sodi = 5 g/l

Nitrat de potassi = 2 g/l (opcional)

Sulfat dipotàssic = 1 g/l (opcional; 0,1 mínim)

Fosfat mono amònic = 0.2 g/l

Sulfat de magnesi MgSO4, 7H2O = 0.2 g/l

Clorur de calci = 0.1 g/l (o calç = 0.07 g/l)

Urea = 0,01 g/l (o 0,034 g/l per extensió de cultiu, per exemple en una bassa de geometria variable, consultar Geometria) ; opcional si hi ha nitrat i si la soca està habituada a consumir nitrat.

Solució amb 10 g de ferro/litre = 0,1 ml/l

El ferro pot ser aportat per la forma quelatada per 0,008 g de Fetrilon 13 o de Ferfol 13, o per 0,005 g de sulfat de ferro FeSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O per litre de medi de cultiu. Si el fòsfor és aportat per l'àcid fosfòric o un fosfat sense amoni, la urea passa a 0,035 g/l (o 0,070 g/l en cas d'extensió de la bassa).

El nitrat de potassi de fet no és necessari, però facilita el treball assegurant una reserva de nitrat i de potassi. Inversament, si posem nitrat podem ometre la urea (si la soca està habituada a consumir la urea pot necessitar 3 dies per habituar-se al nitrat). Si ometem el nitrat, el potassi és aportat pel sulfat dipotàssic. Si l'aigua és suficientment rica en sulfats, el sulfat dipotàssic pot ser reduït a 0,1 g/l i, si a més a més hi afegim nitrat de potassi, pot ser omès.

La dosi total de clorur de sodi + nitrat de potassi + sulfat de potassi depèn de l'alcalinitat b; que ha de ser aproximadament igual a = 12 - (40 x b), en g/l, amb un mínim de 4 g/l. No obstant això, aquesta regla no és absoluta ja que el medi Zarrouk només conté un gram de NaCl per litre.

L'alcalinitat de 0,1 pot ser aportada per 5 g/l de carbonat de sodi o per 4 g/l de sosa, que cal deixar carbonatar abans del seu ús (al voltant de 15 dies a l'aire en una capa de 15 cm); també podem mesclar el bicarbonat de sodi amb el carbonat de sodi o la sosa càustica (consultar l'Annex 12 i A13 Annex 13).

Retinguem que una mescla 50/50 de carbonat i de bicarbonat de sodi dona un pH al voltant de 10 que, en una dosi de 7 g/l corresponent a una alcalinitat de 0,1, és molt convenient a l'inici d'un nou cultiu. El sesquicarbonat de sodi Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. NaHCO<sub>3</sub>.2H<sub>2</sub>O, és un producte natural anomenat "trona o natró" als Estats Units, pot ser utilitzat a 8 g/l i dona un pH de 10,15 que també ens convé força (veure capítol 4.7: ph). El natró africà és un trona impur que no es recomana utilitzar. Els millors natrons són en general els que tenen menys color. Abans d'utilitzar un natró cal fer un test: verificar que una solució de 20 g/litre filtra bé (en filtre de paper de cafè) i no té un color massa fort ni tèrbol; dosificar l'alcalinitat i els sulfats. Sovint trobem fins a un 30% d'insolubles (sorra) i només un 30% de carbonat/bicarbonat. La sorra és fàcil d'eliminar per decantació.

Quan el pH d'un medi en curs de preparació a partir de bicarbonat de sodi i d'aigua calcària ha de ser augmentat amb una aportació de sosa, de carbonat de sodi o de natró, és important afegir el fosfat només després de la sosa, del carbonat de sodi o del natró, per evitar la formació d'un precipitat en folcs que decantarien molt dificilment o que fins i tot tindrien tendència a flotar, com hem pogut comprovar en les proves fetes l'octubre del 2005 a Montpeller (aigua a 116 ppm de Ca).

El nitrat de Xile potàssic ("salitre potásico", granulat i de color rosa degut a l'òxid de ferro), producte natural, pot substituir avantatjosament el nitrat de potassi aportant una rica dosi d'oligoelements, així com sofre i magnesi (veure l'anàlisi de l'Annex A16.1). Xile també exporta nitrat de potassi purificat i nitrat de sodi.

Quan el medi conté simultàniament els ions amoni (NH<sub>4</sub>), magnesi (Mg) i fosfat (PO<sub>4</sub>), les concentracions d'aquestos ions son a vegades (segons les concentracions de pH) interdependents perquè la solubilitat del fosfat mixt d'amoni i de magnesi és extremadament baixa. El fosfat mixt insoluble es manté disponible per l'espirulina ja que es dissol a partir de que les condicions li ho permeten, però si hi ha desequilibri, les concentracions d'un o dos dels tres ions implicats poden ser molt febles, fet que alenteix el creixement i fins i tot pot fer morir el cultiu (tant per manca de magnesi com de fosfat).

Els cristalls de fosfat mixt es dipositen normalment amb els fangs, però a vegades els trobem a la superfície quan hi ha certes condicions i fins i tot les podem trobar a l'espirulina recollida. Això no

és greu. Aquestos cristalls es tornen a dissoldre immediatament per acidificació (com és el cas dins l'estómac!). A tenir en compte que en absència d'amoni els mateixos fenòmens també tenen tendència a produir-se, ja que el fosfat de magnesi és molt insoluble als pH > 9. Es recomana mantenir una concentració en ió Mg aproximadament igual a la de l'ió PO<sub>4</sub>.

Quan l'aigua utilitzada és calcària i sobretot quan és molt calcària (de 100 fins a 500 mg de Ca/l, o més) el fosfat té tendència a precipitar en forma de fosfats de calci (molt insolubles), i això es produirà amb més intensitat quan el pH i la temperatura de cultiu són més elevats. Però els fosfats insolubles poden mantenir-se saturats (en solució) sense precipitar durant molt de temps, sobretot en presència de matèries orgàniques, i fins i tot, si paral·lelament el carbonat de calci precipita. Així, doncs, és molt difícil preveure quan el fosfat en solució serà insuficient per un bon creixement de l'espirulina. Motiu pel qual es recomana, si disposem d'un test que permeti dosificar el fosfat, verificar sovint el fosfat que conté el medi de cultiu quan l'aigua es molt calcària. Trobem kits per dosificar el fosfat en les botigues d'aquariofilia. Amb el cultiu en curs, sobretot en cas de creixement lent o de problemes, és bo mesurar la quantitat de fosfat que conté el medi filtrat i, si es < 5 mg/l, afegir fosfat; si no disposem de test de fosfat podem intentar afegir fosfat per activar el creixement. Quan l'aigua és calcària, la fórmula de medi de cultiu donada tot seguit (veure fórmula del medi de cultiu de la pàgina 19) ha de ser adaptada: disminució o eliminació de l'aportació de calci (aportació que equivalia a 36 mg de Ca/litre en la fórmula), i augment de l'aportació de fosfat (per exemple per cada mg de Ca excedent, afegir 0,5 mg de P, que els trobem per exemple en 1,6 mg d'àcid fosfòric). Podem dir que els fosfats de Ca no solubilitzats constitueixen una reserva de Ca i de P, ja que es poden tornar a dissoldre en cas de necessitat; no obstant això, aquesta possibilitat està limitada pels fangs orgànics i les imperfeccions de l'agitació a prop del fons o en els angles de la bassa. El programa de càlcul de medi MEDFEED (veure més endavant) té en compte aquest suplement de fosfat. Existeix una alternativa: afegir 80 ppm d'EDTA com en el medi Zarrouk, però ens pot repugnar afegir una tal quantitat de producte quelant, 10 vegades la dosi continguda en el Ferol, especialment perquè la seva acció no és garantida.

L'aigua també pot ser tractada per reduir el seu contingut en calci abans de ser utilitzada, cosa que ho complica una mica però pot ser rentable (veure l'Annex 31).

Precaucions per l'emmagatzematge de medi de cultiu nou: veure capítol 4.8 emmagatzematge. Precaucions per l'emmagatzematge d'aigua tractada: emmagatzematge.

## 4.2) Medi "Zarrouk" (tesi Zarrouk (1966), pàgina 4)

El medi estàndard de Zarrouk, molt sovint citat i que serveix de referència, però no gaire econòmic, es fabricat a partir d'aigua destil·lada i conté, en g/litre:

```
NaHCO_3 = 16.8; K_2HPO_4 = 0.5; NaNO_3 = 2.5; K_2SO_4 = 1.0; NaCl = 1.0; MgSO_4, 7 H_2O = 0.2; CaCl_2 = 0.04; FeSO_4, 7 H_2O = 0.01; EDTA = 0.08; "solució A5" = 1.0; "solució B6" = 1.0.
```

Composició de la "solució A5", en g/l:  $H_3BO_3 = 2,86$ ;  $MnCl_2$ ,  $4 H_2O = 1,81$ ;  $ZnSO_4$ ,  $7 H_2O = 0,222$ ;  $CuSO_4$ ,  $5 H_2O = 0,079$ ;  $MoO_3 = 0,015$ 

Composició de la "solució B6", en g/l:  $NH_4VO_3 = 0.02296$ ;  $K_2Cr_2(SO_4)_4$ , 24  $H_2O = 0.096$ ;  $NiSO_4$ , 7  $H_2O = 0.04785$ ;  $Na_2WO_4$ , 2  $H_2O = 0.01794$ ;  $Ti_2(SO_4)_3 = 0.04$ ;  $Co(NO_3)_2$ , 6  $H_2O = 0.04398$ .

Es pot observar que el producte de solubilitat de fosfat tricàlcic està àmpliament sobrepassat en aquesta fórmula, però l'EDTA impedeix que precipiti.

## 4.3) I si no disposem de cap producte químic?

En aquest cas, o en el cas de que vulguem produir una espirulina "100% ecològica", utilitzar productes naturals. Per exemple es pot utilitzar bicarbonat de sodi natural americà, trona o natró o lleixiu de cendres de fusta, i tota la resta pot ser reemplaçat per 4 ml d'orina (Bibliografia : Jourdan) per litre, més la sal i, en cas necessari, el ferro. Veure el capítol "Aliment" (orina) les precaucions que implica utilitzar orina. Si l'orina està proscrita per una raó o una altra, existeix el recurs del nitrat de Xile i l'àcid fosfòric extret de la pols d'ossos calcinats (el fosfat natural i el superfosfat contenen massa cadmi); malauradament el nitrat de Xile ha estat declarat "no ecològic" a Europa encara que el seu origen és natural; aleshores encara hi ha una altra possibilitat: les fulles de vegetals comestibles barats (exemple: l'ortiga) que es deixen remullar en el lleixiu carbonatat i que aporten tots els elements, inclòs el carboni, però la seva seguretat no ha estat demostrada i té tendència a embrutar el medi. També es poden utilitzar els "purins de fulles", però la seva olor és més aviat desagradable.

Tenir en compte que l'aigua de mar filtrada (o com a últim recurs la sal no refinada) és una bona font de magnesi i també aporta calci, potassi i sofre.

Tenir en compte també la possibilitat de posar en el medi de cultiu productes reconeguts com insolubles però que de fet permeten la solubilització progressiva d'elements consumits per l'espirulina; es pot citar la pols d'ossos calcinats (aporten fòsfor i calci), el calcari i la dolomita aixafada (aporten calci i magnesi), els fangs residuals d'aigua de cendra (aporten magnesi, calci, sofre i oligoelements) i l'argila (aporta oligoelements). Aquestos productes decantaran al fons de la bassa on corren el risc de ser recoberts bastant de pressa per fangs i perdre així la seva eficàcia. L'agitació amb una escombra pot ajudar; però cal preveure renovar aquestos afegits cada vegada que es neteja la bassa.

#### Preparació de l'aigua de cendra

La cendra de fusta utilitzada ha de ser neta (tant blanca i sense sutge com sigui possible) i rica en sals solubles. Les millors fustes son (a Europa) les de pollancre, om, til·ler, bedoll, pi, eucaliptus; les branques són més riques que els troncs. A Àfrica algunes parts de les palmeres són especialment riques en potassa i són utilitzades tradicionalment per extreure'n potassa, sobretot per la fabricació de sabó (per cert existeixen forns construïts per obtenir una cendra blanca per aquest propòsit). A França existeixen estufes de llenya anomenades "Turbo" que produeixen una cendra blanca (consultar per exemple: <a href="http://rocles03.free.fr">http://rocles03.free.fr</a>).

Per fabricar el lleixiu de cendra, podem utilitzar el dispositiu següent: un gibrell amb un fons amb forats, una capa de pedres al fons, una tela, i de 30 a 50 cm de cendra damunt la tela; aboquem l'aigua damunt la cendra (uns 5 litres d'aigua per quilo de cendra, i repetim el mateix procediment immediatament diverses vegades) i la deixem filtrar a través de la capa de cendra; inicialment el líquid goteja molt concentrat i molt càustic; convé protegir-se ja que ataca ràpidament la pell i mai ha d'entrar en contacte amb els ulls (en aquest cas, aclarir la superficie immediatament amb aigua abundant). Podem reciclar el líquid obtingut inicialment. Llençar la cendra vella quan estigui esgotada i recomençar amb la nova. Esperar quinze dies perquè la carbonatació del lleixiu es faci a l'aire lliure en una bassa on el líquid tingui uns 15 cm d'espessor. Durant aquest període procureu

que l'aire es renovi i que removeu de tant en tant. El temps de carbonatació és inversament proporcional a l'espessor, si es vol anar més ràpid n'hi haurà prou amb estendre la solució en una capa més estreta; una altra possibilitat per accelerar el procés és neutralitzar amb una mica de bicarbonat de sodi (consultar l'Annex 13) o de gas carbònic concentrat.

#### Preparació d'un medi a partir d'aigua de cendres.

Mesurar la salinitat (consultar l'Annex 3, corba 2) o millor l'alcalinitat (consultar l'Annex 5) de l'aigua de cendra carbonatada.

Dissoldre i afegir la sal: la dissolució normal és de 8 g/l de sal de cendres (o bé una alcalinitat = 0,1), més 5 g/l de sal de cuina, però en cas d'escassetat es pot reduir considerablement la dosi de sal de cendres sempre que es mantingui la salinitat total a 13 g/l afegint més sal. No oblidar afegir ferro. Per una millor comprensió aquí tenim un exemple per un medi de cultiu de 4 m² a punt per ser cultivat.

Fer lleixiu de cendres prenent 20 kg de cendres i 3 vegades cent litres d'aigua Carbonatar el lleixiu a l'aire lliure durant quinze dies a poca espessor Diluir a una densitat (20 °C) = 1,005 amb 300 litres d'aigua Afegir 3 kg de sal Afegir els elements que manquen: 80 g de xerop de ferro, i 2 litres d'orina.

Si l'orina és impossible, reemplaçar-la amb l'aportació desitjada de nitrats, fosfat, magnesi i calci, malgrat que no seran sempre "ecològic" i podran incloure fertilitzant NPK i urea.

#### Preparació de sulfat de magnesi a partir de cendres de fusta

Després d'extreure les sals solubles de la cendra (com acabem de descriure), el producte residual de la filtració pot servir per fabricar una solució de sulfat de magnesi. Aquí tenim una recepta que ha donat bons resultats (provada a Montpeller el febrer del 2006).

Dissoldre 1 kg de pasta residual humida (residu de fabricació d'aigua de cendra) en 4,5 litres d'aigua. Afegir progressivament àcid sulfúric al 32% [Atenció, manipular l'àcid amb precaució, tenint sempre aigua a mà per rentar-se immediatament en cas de contacte amb la pell]: es desprèn molt gas carbònic, procurar que el recipient no desbordi. Aturar d'afegir àcid quan no hi hagi més emanació de gas (en el nostre exemple ha estat necessari afegir 1,16 kg d'àcid). El pH està aleshores al voltant de 5, però augmenta en pocs dies fins a 7,5 perquè cessa l'emanació de gas. Decantar i filtrar la solució obtinguda, al voltant de 6 litres, que es compon de:

```
1,75 g de Mg / litre, és a dir que equival a MgSO<sub>4</sub>,7 H<sub>2</sub>O: 18 g / litre 0,38 g de Ca / litre, en forma de sulfat de calci 0,015 g de fòsfor / litre 2,6 g de sobre / litre
```

El residu està constituït en gran part de guix (sulfat de calci) i impureses (fosques).

La utilització d'aquesta solució com a font de Mg aporta quantitats de Ca, P i S que normalment són insignificants. Els 6 litres de solució són suficients per fer 1000 litres de medi o produir 10 kg d'espirulina. Cal doncs uns 40 g de cendres + 40 g d'àcid sulfúric (comptat al 100%) per kg d'espirulina.

## Preparació de l'àcid fosfòric a partir d'ossos (Mètode de Jacques Falquet, desembre del 2003)

#### amb àcid sulfúric

#### Material:

Ossos (de qualsevol animal, fins i tot serveixen els ossos vells)

Quelcom que serveixi per fer un bon foc

Un morter

Una balança de cuina

Un gibrell o una galleda de plàstic (el metall no és convenient, excepte si està esmaltat) que pugui contenir 10 litres com a mínim.

Àcid de bateria (=àcid sulfúric al 25%).

Atenció: MAI utilitzar l'àcid situat a dins d'una bateria: utilitzar únicament àcid sense utilitzar, que es ven en flascons.

Recipients per l'emmagatzematge del líquid obtingut (en vidre o en plàstic, el metall no és convenient)

#### Mètode:

- 1) Calcinar molt bé els ossos en un foc de brases. Després del refredament retirar amb cura els ossos (prendre el mínim possible de cendres). Picar aquestos ossos fins a convertir-los en pols (si els ossos han estat ben calcinats seran blancs-grisos i molt fàcils de picar). En un gibrell de plàstic (i fora de l'abast dels nens!):
- 2) Per 1 kg de pols d'ossos calcinats, afegir 4 litres d'àcid de bateria, remoure i deixar-ho com a mínim dos dies (removent de tant en tant).
- 3) Atenció: manipular l'àcid amb precaució, tenint sempre aigua a mà per rentar-se immediatament en cas de contacte amb la pell.
- 4) A continuació afegir 4 litres d'aigua, remoure i deixar reposar algunes hores.
- 5) Prendre amb cura tant líquid clar com sigui possible i guardar-lo en un bidó de plàstic o en recipient de vidre.
- 6) [NDLR: nosaltres preferim filtrar el producte blanquinós obtingut i després rentar amb un filtre amb la mateixa quantitat d'aigua; premsant aquesta massa, el rendiment pot aproximarse al 100% i el volum obtingut es dobla]

Atenció! Aquest líquid (anomenem-lo "extracte d'os") és corrosiu: mantenir-lo fora de l'abast dels nens o de persones estrangeres al projecte. Etiquetar i inscriure un signe d'advertència en cada flascó!

L'"extracte d'os" conté uns 50 grams d'àcid fosfòric per litre.

Per preparar un nou medi de cultiu d'espirulina, utilitzarem (en substitució del fosfat) dos litres d'extracte d'os per 1000 litres de medi de cultiu.

Per alimentar l'espirulina després de la recol·lecció, utilitzarem com a font de fòsfor:

#### 1 litre d'extracte d'os per kg d'espirulina seca recollida.

Això, és clar, com a complement dels altres productes (nitrat, etc.)

- al suc de llimona

#### Material:

Ossos (de qualsevol animal, fins i tot els ossos vells són útils) i quelcom per fer un bon foc.

Un morter, una balança de cuina.

Una olla

Suc de llimona

#### Mètode:

- Calcinar molt bé els ossos en un foc de brases
- Després del refredament retirar amb cura els ossos (prendre el mínim possible de cendres)
- Picar aquestos ossos fins a convertir-los en pols (si els ossos han estat ben calcinats seran blancs-grisos i molt fàcils de picar)
- En una olla, barrejar 100 g de pols d'os per litre de suc de llimona
- Bullir a foc baix durant 15 minuts
- Deixar reposar com a mínim un dia, removent de tant en tant.
- Filtrar amb un teixit fi
- El líquid recuperat conté uns 20 g/l de fosfat soluble.
- Si és necessari, el podem concentrar amb una ebullició prolongada.

#### Utilització:

Per preparar un nou medi de cultiu d'espirulina, utilitzarem (en substitució del fosfat) cinc litres d'aquest suc per 1000 litres de medi de cultiu.

Per alimentar l'espirulina després de la recol·lecció, utilitzarem com a font de fòsfor:

2.5 litres de suc per kg d'espirulina seca recol·lectada.

Això, és clar, com a complement dels altres productes (nitrat, etc.)

(N.B. 1: desconfiar de les pols d'os calcinades que es venen al mercat, a Àfrica per exemple, on la qualitat pot ser dubtosa; val més fabricar-la un mateix!)

N.B. 2: Aquest mètode de preparació d'àcid fosfòric s'aplica als fosfats de calci naturals obtinguts de la descomposició del guano, com el producte anomenat PHOSMAD a Madagascar.

## 4.4) Renovació del medi de cultiu/purgues

El medi de cultiu ha de mantenir-se amb poc color i poc tèrbol per assegurar el millor funcionament. Normalment els bacteris i el zooplàncton s'encarreguen de la mineralització i del reciclatge dels residus biològics. Però pot succeir que la producció de residus sigui superior a la seva eliminació (sobretot en les basses de productivitat accelerada); també pot succeir que el medi s'esgoti en oligoelements o que la salinitat tingui tendència a esdevenir massa elevada (en cas d'alimentació carbonatada en forma de bicarbonat de sodi o d'alimentació de nitrogen en forma de nitrats), o fins i tot si l'aigua utilitzada és salada: aleshores cal reemplaçar el medi de cultiu o practicar una purga.

Aquesta purga es fa preferentment pel fons (per bombeig o sifó) eliminant a la vegada els fangs, o bé, quan es fa la collita, no reciclant el filtrat. Si les pluges augmenten el nivell de la bassa i hi ha el risc de que desbordi, també caldrà fer una purga per reduir el seu nivell. Afegir a la bassa la quantitat de sals que contenia la purga (excepte, evidentment, aquelles que ens permeten reduir el nivell de concentració, si així ho volem). Si hem fet una purga perquè el nivell era massa elevat degut a les pluges, només afegirem, evidentment, les sals, sense més aigua.

Si una bassa sembla massa rica en un element (per exemple s'ha introduït massa urea) i si el nivell de la bassa és prou baix, es pot afegir nou medi sense l'element en excés, per tal de diluir-lo.

És possible que un medi de cultiu no s'hagi renovat ni depurat durant varis anys si els oligoelements són aportats adequadament i si la productivitat no és excessiva en relació amb la profunditat del

cultiu (la profunditat expressada en cm ha de ser com a mínim quatre vegades la productivitat mitjana expressada en g/dia/m²) i preferentment si l'agitació es realitza durant la nit per millorar l'oxigenació. Això no obstant, en la pràctica una certa taxa de renovació del medi ajuda a mantenir la concentració de possibles contaminants (químics o biològics) a un nivell insignificant i assegura el subministrament d'oligoelements (continguts en l'aigua emprada o en les sals). És apropiat reforçar un mínim cada 2 kg d'espirulina produïda per m² de bassa, cada 6-18 mesos segons la productivitat, en una vegada o, millor, progressivament. Per evitar problemes, si ens ho podem permetre renovarem el medi cada 3 mesos (o purgarem l'1% / dia), però cal saber que no és una necessitat.

#### N.B.

- a) El cultiu sense o gairebé sense renovació requereix més vigilància dels possibles contaminants.
- b) El no reciclatge del medi de cultiu equival a un percentatge de purga del 0,02%/dia.
- c) Si la meitat del nitrogen és aportat pel nitrat, aquest darrer aporta aproximadament l'alcalinitat perduda per aquesta purga.

## 4.5) Depuració i reciclatge del medi de cultiu

En principi es recomana, per raons ecològiques, no llençar la purga al medi ambient sinó utilitzar-la per l'alimentació animal o bé deixar-la evaporar en una bassa fent així que es converteixi en un pantà salat; preferentment es protegirà de la pluja sota un hivernacle. Les sals recuperades, similars al natró natural, possiblement poden ser purificades per calcinació (fer atenció a la bona regulació de la temperatura i al subministre d'oxigen per evitar l'ennegriment per carbonització) o per recristal·lització, i així ser reciclades, però això està per provar. Amb l'evaporació en sec, una renovació cada 3 mesos necessitaria una superfície d'evaporació d'un terç de la superfície de la bassa.

També és possible reciclar el medi de cultiu després d'una depuració parcial (procediment utilitzat per F. Haldemann a Equador): En aquest cas no es segueix la relació de capítol 4.4 exposada prèviament (profunditat = 4 x productivitat); aquesta depuració consisteix en una combinació de filtració, decantació i tractament biològic per la flora natural, protegida de la llum, en basses profundes de 1 a 2 m amb un temps de permanència total de 2 a 4 setmanes. Una altra manera de procedir, menys adequada: enviar les purgues a una bassa "natural" poc o gens picada, d'una superfície igual a un terç de les basses actives i d'una profunditat de 2 m. Recuperar per l'alimentació animal l' espirulina que s'hi fan i reciclar el medi després d'una eventual esterilització. Un simple emmagatzematge de medi de cultiu durant 6 mesos a 20 °C, sense remoure i protegit de la llum, purifica molt adequadament: en zona temperada, per exemple, el medi de cultiu es purifica, de sobres, a ell mateix durant l'hivern, on la producció es nul·la i la temperatura és baixa.

En comptes de construir una instal·lació de purificació, sembla més simple, a nivell artesanal, d'ampliar la superficie i/o la profunditat de les basses per fer-hi la depuració biològica "in situ", a canvi d'una productivitat més baixa però amb una taxa de purga de medi molt baixa, o nul·la. Una altra solució possible: utilitzar les purgues com abonament escampant-lo pels camps o sobre una pila de compost. La forta concentració de medi de cultiu en sodi és inadequada per nombroses plantes, però no per totes (per exemple per la palmera de cocos). També es poden substituir en la fórmula del medi de cultiu el màxim d'ions de sodi per ions de potassi.

L'aigua de cendra (al ser bastant concentrada en potassa no en necessitem més de dos o tres grams de sal per litre) és convenient. Sinó podem utilitzar un medi que contingui 10 g de bicarbonat de

potassi + 2 g de nitrat de potassi + 1 g de sulfat dipotàssic + 3 g de sal per litre (la resta com a capítol 4.1).

Per obtenir un medi a un pH proper de 10, es podrà substituir els 10 g de bicarbonat de potassi per 6 g de bicarbonat de potassi + 2 g de potassa càustica (atenció: aplicar les mateixes precaucions de seguretat que amb la sosa!) o bé per 3 g de bicarbonat de potassi + 4 g de carbonat de potassi.

Un medi ric en potassi és, com a mínim, dues vegades més car que un medi ric en sodi, però té l'avantatge de proporcionar una espirulina que pot ser útil pels règims "sense sodi"; aquest avantatge podria compensar amb escreix el sobre-cost del medi.

## 4.6) Utilització d'aigua de mar

Utilitzar l'aigua de mar per iniciar i mantenir un cultiu d'espirulina, sense cap altre tractament previ que un filtratge, és possible a condició de treballar amb un pH regulat amb molta precisió al voltant del de l'aigua de mar, fet que tècnicament és molt difícil pels productors artesanals. Efectivament l'aigua de mar conté una quantitat excessiva de calci i de magnesi que, a pH elevat, provoca una gran precipitació de carbonats i fosfats. D'altra banda la salinitat elevada d'aquesta aigua (35 g/l) prohibeix que sigui utilitzada normalment per compensar l'evaporació, excepte si aquesta s'utilitza en poca quantitat i de manera prudent en les basses situades a l'interior d'un hivernacle.

Ripley Fox ha desenvolupat el concepte d'una granja d'espirulina (gegant) que funciona amb aigua de mar tractada amb carbonat de sosa, ell mateix en produeix a partir de sosa electrolítica. El clor i l'hidrogen, subproductes de l'electròlisi, són transformats en àcid clorhídric i s'utilitza per generar CO<sub>2</sub> pur a partir de carbonat de sosa. El problema de la compensació de l'evaporació es soluciona expulsant el medi de cultiu (neutralitzat prèviament) al mar quan la salinitat esdevé massa elevada. Aquest concepte potser serà aplicat en alguna ocasió però requereix nombrosos recursos que no estan a l'abast d'un petit productor.

En canvi, es pot aprofitar l'aigua de mar i utilitzar-la en petites quantitats per aportar magnesi i sofre.

## 4.7) pH òptim

El pH òptim d'un medi de cultiu inicial depèn de com serà utilitzat. Si ha de ser inseminat per iniciar un nou cultiu, el seu pH ha de ser com a mínim 9: si és massa baix el cultiu corre el risc d'arrancar inadequadament, amb formació de grumolls o precipitació de l'espirulina al fons. El natró o la mescla carbonat + bicarbonat de sodi, o l'aigua de cendres carbonatada, són doncs ben adaptats a aquest cas.

En canvi, si el nou medi ha de servir per afegir a un cultiu que ja existeix, el seu pH pot estar més aviat al voltant de 8, fet que contribueix a mantenir el pH del cultiu suficientment baix degut a l'aportació del bicarbonat de sodi. És el cas típic de les basses extensibles ("de geometria variable"). En aquest cas el medi ha de ser únicament a base de bicarbonat de sodi, si en podem disposar. Si el medi és a pH baix es podrà utilitzar més fàcilment el NPK no desamoniacal sense posar en risc l'espirulina, ja que el que és perillós és el NH<sub>3</sub> (per un pH baix és NH<sub>4</sub> qui domina).

## 4.8) Emmagatzematge de medi de cultiu nou i d'aigua tractada

No es recomana emmagatzemar el medi de cultiu nou, fins i tot si el protegim de la llum, ja que és per naturalesa un "brou de cultiu" on es podrien desenvolupar microorganismes indesitjables. Aquesta advertència s'aplica sobretot als medis de pH baix.

També és molt desaconsellat emmagatzemar l'aigua dolça, per exemple l'aigua dura tractada per eliminar l'excedent de minerals, ja que la llum farà desenvolupar en pocs dies algues exteriors i cianobacteris. Entre aquestos últims n'hi ha d'elevada toxicitat (és el cas d'alguns llacs d'aigua dolça).

## 4.9) Programes de càlcul del "MEDI DE CULTIU"

Per facilitar els càlculs pel medi i de l'aliment mineral tot tenint en compte les matèries primeres i l'anàlisi de l'aigua disponible, s'han creat programes de càlcul (Veure Càlculs).

## 5) REPRODUCCIÓ INICIAL

## **5.1) Quina soca d'espirulina utilitzar?**

Existeixen diferents varietats (soques) d'espirulina, encara que totes elles tenen unes característiques comunes que les distingeixen de les altres algues. Amb microscopi, o fins i tot amb una lupa de gran augment (x25), es reconeix molt ràpidament si l'espirulina és espiralada o recta, però és menys fàcil de dir quin és el tipus de soca ja que l'espirulina té una gran tendència a canviar de talla i de forma (molt o poc espiral o ondulada o recta).

Quan es presenta en forma recta es planteja el dubte: és espirulina o la molt semblant alga Oscillatories algunes de les quals són tòxiques? Un ull exercitat no pot confondre'n una de recta amb una de les Oscillatorias tòxiques corrents (algues estrangeres). Un molt elevat percentatge de rectes condueix a dificultats de recol·lecció. Per tant, preferentment prendrem una llavor 100% espiral, de talla gran, d'un bonic color verd tirant a blau-verd, que filtra fàcilment. Es poden obtenir soques pures a l'Institut Pasteur o, encara millor, a Antenna Technologies a Ginebra (N. de la T. O bé a la Xarxa Internacional de Cultivadores d'Espirulina per la Sobirania Alimentària mitjançant la seua pàgina web: xarxaespirulina.wordpress.com). De fet, segons la denominació científica, totes elles són "Arthrospira platensis". Anomenem "espirals de tipus Lonar" aquelles soques on els filaments són en forma de "cua de porc", com ho són els de la "Lonar". Anomenem "espirals ondulades" (o "ondulades") les soques on els filaments són en espiral estirada, com ho és la "Paracas".

Per facilitar l'elecció de la soca, aquí tenim alguns elements útils:

- Les espirals tipus Lonar floten més que les ondulades i les rectes, cosa que possiblement permet la seva separació.
- Les espirals filtren millor i la seva biomassa "fa la bola" fàcilment sobre el filtre, almenys quan el medi de cultiu és bastant pur.
- Les espirals tenen més tendència a formar pells i grumolls verds flotants, sobretot a un pH baix i en absència d'amoni (veure <u>capítol 7.9</u>), cosa que és un inconvenient.
- El contingut en matèria seca dins la biomassa escorreguda a punt per assecar és més elevada en les ondulades i les rectes que en les espirals tipus Lonar, cosa que és una avantatge.
- La biomassa de les espirals tipus Lonar s'assequen més fàcilment.
- Les ondulades gairebé no tenen tendència a tornar-se rectes, almenys en condicions d'explotació normal.
- Les ondulades resisteixen al bombejat de bombes centrífugues, mentre que les espirals es trenquen.
- Les ondulades resisteixen millor el xoc osmòtic (de fet podem rentar la biomassa amb aigua dolça sense que les cèl·lules esclatin).

No hi ha diferències notables de composició o de valor nutritiu entre aquestes soques, per contra el color verd de les ondulades és més fosc; alguns prefereixen el color i el sabor d'una o altra soca, però això és una qüestió de gust personal.

Les ondulades i les rectes tenen trets comuns, però les ondulades no pateixen la sospita de no ser "veritables" espirulines.

En fi, la nostra preferència en la pràctica és per les "ondulades", encara que les "espirals" siguin més boniques al microscopi.

# 5.2) Reproducció inicial a partir d'una quantitat important de llavor

Per començar a reproduir n'hi ha prou amb transvasar dins el nou medi de cultiu un cert volum de cultiu provinent d'un altre recipient en producció fins que el color esdevingui verd (el "disc de Secchi" no ha de veure's a 5 cm de la superfície). La reproducció inicial es fa preferentment al vespre. Es pot reduir el volum a transferir extraient la capa flotant concentrada o fins i tot recollint l'espirulina sense escórrer (dispersant-la bé en una mica de medi de cultiu abans d'abocar-la al recipient, així evitarem deixar-hi grumolls, cosa que no és gens fàcil amb les soques espirals: per exemple podem utilitzar una hèlix de mesclar pintures connectada a un trepant).

Per aconseguir posar en marxa un cultiu, estarem sempre interessats a iniciar-lo tant concentrat d'espirulina com sigui possible. És per això que l'iniciem amb el mínim de líquid (per exemple de 5 a 10 cm) si la disponibilitat de llavor és limitada, i/o utilitzem la tècnica del "recipient a geometria variable". Un cultiu inicial concentrat (Secchi < 3 per exemple) té molt menys risc de ser envaït per les *Chlorelles* o sofrir l'arrossegament de l' espirulina cap els fangs calcaris (quan treballem amb una aigua dura).

Si el cultiu inicial és massa diluït (Secchi superior a 5 cm), s'ha d'ombrejar, sinó l' espirulina corre el risc de mort per la foto oxidació provocada pel sol. També cal estar atents per evitar els sediments minerals que arrosseguen espirulina amb ells (per això filtrar, segons necessitat, el nou medi abans d'iniciar el cultiu i mantenir l'agitació durant la nit si és possible). Si el nivell inicial és el nivell normal, i si el medi nou és a base de bicarbonat de sodi, tampoc iniciar el cultiu amb molta

concentració, sinó s'haurà de fer la recol·lecció abans que el pH hagi arribat al nivell mínim recomanat de 9,6 (veure capítol 7.13); tanmateix, és fàcil de començar amb un medi de cultiu a pH 9,6 o més elevat, mesclant carbonat de sodi o sosa al bicarbonat de sodi (veure Annex 12 i Annex 13). Un altre avantatge d'un pH inicial elevat és la reducció de la tendència inicial de formació de grumolls de les soques espirals, avantatge que pot ser decisiu quan tenim poca llavor: no se'n pot perdre en grumolls! D'altra part, és segur que és interessant no sotmetre la llavor d'espirulina a un xoc de pH: hem arribat a veure morir un inici de cultiu després d'un xoc de pH de 2 unitats (de 10 a 8).

És permès d'emmagatzemar durant alguns dies i transportar una llavor molt concentrada (de 3 a 4 g/l per exemple, però no més), sempre i quan l'agitem i l'airegem de quan en quan, ja que sinó fermenta i fa mala olor. A 2 g/l, el transport pot durar deu dies. A tenir en compte que d'una capa flotant recollida amb cura se'n pot obtenir de 5 a 10 g/l. En una llavor molt concentrada el pH baixa i una olor marcada (olor a xucrut) es desenvolupa amb el temps. Després de l'inici del cultiu amb una espirulina que ha sofert durant l'emmagatzematge, el nou recipient de cultiu pot generar espuma en excés, però això desapareix normalment en un o dos dies.

La llavor es conserva millor a temperatura baixa, a uns 10 °C per exemple (reducció de la respiració).

La biomassa fresca, però també la premsada, pot servir per iniciar un cultiu. Una espirulina concentrada és important per facilitar el transport i per iniciar-ne un volum gran de cultiu.

### 5.3) A partir d'una petita quantitat de llavor

Per implantar un cultiu d'espirulina en un lloc que n'està desproveït, o per començar amb una nova soca, generalment no és possible disposar d'una gran quantitat inicial de cultiu. Freqüentment només disposem d'un petit recipient omplert només fins a la meitat (perquè hi hagi oxigen suficient). Podem aconseguir una soca pura a l'Institut Pasteur, però no tindrem més que alguns mil·lilitres de cultiu per començar (N.B. el medi de cultiu indicat per l'Institut Pasteur en la documentació que acompanya les seves soques correspon al manteniment de les soques i és diferent del medi de cultiu per al seu creixement). Podem també partir d'un sol filament que aïllem nosaltres mateixos (veure capítol 5.6).

Suposem que el punt de partida sigui 150 g de cultiu a 1 g/l de concentració d'espirulina i que l'objectiu sigui multiplicar el volum de llavor inicial per iniciar un cultiu en una bassa de 1000 litres. Farà falta com a mínim 4 cultius successius, multiplicant cada vegada el volum per 5, cosa que demana unes tres setmanes en total (amb una taxa de creixement del 35% /dia que obtindrem fàcilment amb un medi de cultiu a base de bicarbonat de sodi). El primer mini cultiu es farà en un pot de dos litres, el segon en un recipient de 10 litres, el tercer en un recipient de 50 litres, l'últim en una mini bassa provisional en plàstic d'1 m² (o varis recipients grans).

Si la concentració inicial de cada cultiu és més feble el disc de Secchi = 5 cm, no només cal ombrejar, sinó que també s'ha de remoure durant el dia i la nit (sinó l' espirulina pot aglomerar-se, sobretot als costats, i tenir dificultats per dispersar-se). És possible evitar aquesta aglomeració augmentant el pH, però això augmenten els fangs minerals que poden retenir l'espirulina. S'arriba també a iniciar un cultiu partint de concentracions molt baixes (Secchi = 15).

L'agitació contínua dels cultius en petits recipients (ampolles, cubells, basses per exemple) es fa amb bombolles d'aire com en un aquari i necessita una relació alçada de líquid/diàmetre elevada, igual o superior a 1, i si és possible un fons cònic i que el tub portador d'aire estigui en el fons (existeixen compressors d'aquari que funcionen amb piles). És pràctic escalfar i il·luminar simultàniament els petits cultius inicials en laboratori a través de llampares incandescents o halògenes situades a la bona distància per mantenir automàticament uns 35 °C en el cultiu.

L'agitació de volums importants (>100 litres) de cultius diluïts es pot fer amb una petita bomba d'aquari, però tenim interès en no bombejar més d'un quart d'hora per hora per tal de no deteriorar l'espirulina, per tant cal utilitzar un rellotge programador. Les soques ondulades són molt menys sensibles als danys de les bombes.

Per evitar la formació de grumolls (sobretot amb les soques espirals tipus Lonar i quan no hi ha agitació contínua) a l'inici del cultiu, cal diluir molt progressivament la llavor concentrada afegint petites dosis de medi de cultiu nou a base d'urea, per exemple cada vegada que l'agitem. Mantindrem una concentració elevada d'espirulina els primers dos dies. Seguidament el nostre interès passa per conservar una concentració elevada en espirulina (0,3 g/l o més), així que diluirem el mínim possible el cultiu en cada increment de volum: una dissolució progressiva (per exemple quotidiana) és la millor. Per això podem utilitzar una "bassa a geometria variable", extensible en superfície, fàcil a dur a terme amb film de plàstic.

Cada increment de volum (i també de superfície) es fa per dissolució amb ajuda de medi de cultiu nou (preferentment a base de bicarbonat de sodi). El nou medi de dissolució – si és a base d'urea com font de nitrats— ha de tenir una bona dosi d'urea (0,04 g/l) o, si és a base d'orina: 6 ml d'orina/l. Si el nou medi és a base de bicarbonat de sodi, per tant de pH = 8, el pH del cultiu es manté al voltant de 9,6 durant la seva fase d'extensió. Aquest pH pot ser insuficient per evitar els grumolls de les espirals: en aquest cas cal augmentar el pH afegint medi de cultiu a base de carbonat fins arribar a pH = 10,3.

#### N.B.:

- 1) Un cultiu pot morir després de ser dissolt, de ser il·luminat o de ser escalfat massa fort o durant massa temps.
- 2) L'augment de nivell de la bassa s'ha de fer afegint medi de cultiu. Si afegim sals no dissoltes directament a la bassa pot ser molt perillós pel cultiu.
- 3) Si preparem prèviament una reserva de medi de cultiu per ser diluït, guardar-lo poc temps i deixar-lo en lloc fosc per evitar el risc de contaminació per algues estrangeres.
- 4) Atenció: un xoc de pH de 2 unitats és sovint mortal: quan iniciem el cultiu procureu minimitzar les diferències de pH entre el de la llavor i el de la bassa.

## 5.4) Taxa de creixement inicial

La rapidesa de creixement depèn de varis factors, entre els quals el pH. El creixement és màxim a un pH inferior a 10, i per tant estem interessats a utilitzar bicarbonat de sodi per iniciar ràpidament un nou cultiu. Tenim també interès per maximitzar la superfície de cultiu (per tant, bassa poc profunda si és possible). El mètode d'extensió progressiva de la superfície de cultiu (a "geometria variable"), descrit prèviament, afavoreix un creixement ràpid. La millor manera de caracteritzar la implementació d'un nou cultiu és calculant la taxa de creixement exponencial de la fase inicial de creixement que precedeix la fase de recol·lecció. Aquesta taxa s'expressa en % de creixement de

pes per dia. En condicions favorables, en medi a base de bicarbonat de sodi, pot superar el 30% per dia. A partir d'un gram de soca (expressat en espirulina seca), a una taxa del 20%/dia, obtindrem en 40 dies 20 m² de bassa de 15 cm de profunditat a punt per ser recollida. O 120 m² en 50 dies.

N.B. Estaríem temptats de il·luminar els cultius les 24 hores del dia per incrementar la taxa de creixement, però és millor no sotmetre l'espirulina a més de 16 hores d'il·luminació per dia, igualment si disposem d'il·luminació artificial.

## 5.5) Reserva de soques

En temps normal les basses mateixes serveixen de reserva si es mantenen en bona salut i sense contaminant, però cal preveure els accidents i com passar una mala temporada si es donés. A vegades també tenim interès per buidar completament les basses i reactivar-les de nou des de zero per assegurar el manteniment d'una bona qualitat d'espirulina (sense contaminació, sense les rectes, que filtrin bé). Per això cal disposar de soques pures. És doncs recomanat conservar una mica de soca pura "en laboratori" (= dins de casa), a temperatura moderada o ambient, sota una feble il·luminació d'unes 12 hores/dia (en absència total de llum l'espirulina mort en uns dies, per exemple 2 dies a 35°C), lleugerament sacsejada, i renovada ("replantada") cada 2 o 3 mesos: en aquestes condicions, es conserva bé mentre que en cultiu massa intensiu té tendència a fer mutacions i pot degenerar. Una ampolla de plàstic és un recipient adequat. Per sacsejar i airejar, el més pràctic és un petit compressor elèctric d'aire d'aquari que podem posar en marxa només de tant en tant gràcies a un programador (existeixen aquestos compressors i programadors que funcionen en corrent continu). Per il·luminar i escalfar el cultiu és suficient una llum de capçalera de 40 Watt dirigida horitzontalment cap a l'ampolla, a la distància que doni una temperatura correcta (<30 °C). Per conservar quantitats més importants de soques, s'utilitzen recipients o aquaris, amb llums més potents, incandescents o halògenes; els fluorescents escalfen poc i convenen si la temperatura ambient és suficientment elevada.

Foto d'una reserva de soques:



#### 5.6) Selecció i cultiu monoclonal

El cultiu inicial a partir de qualsevol soca condueix a un cultiu que té els mateixos contaminants que la soca inicial. Per assegurar-se de tenir un cultiu pur ("monoclonal"), cal teòricament partir d'un sol filament seleccionat i rentat amb medi estèril.

És possible separar un filament individual a partir d'una mescla de soques. Diverses tècniques, basades en una dissolució del cultiu d'origen, són utilitzables per efectuar aquesta separació, que és una operació força difícil per algú no especialitzat. És més fàcil i ràpid extreure d'un cultiu molt poc contaminat (per espirulina recta per exemple) una gota sense contaminació: la selecció es fa examinant la mostra al microscopi de pocs augments, rebutjant les gotes contaminades encara que es tracti de només un filament estrany i introduint les gotes pures en un medi de cultiu filtrat (aclarint la làmina del microscopi a la pipeta plena de medi de cultiu filtrat). Es recullen tantes gotes pures com es pugui en el temps de que es disposi: com més n'hi hagin més ràpid s'obtindran unes soques utilitzables. És prudent de fer aquesta operació de selecció de manera regular per mantenir així un estoc pur de seguretat que eviti que un % de contaminants (espirulina recta per exemple) massa elevat faci difícil l'operació de selecció.

## 6) ALIMENTACIÓ MINERAL DE L'ESPIRULINA

[N.B. Existeix un software que facilita els càlculs dels medis de cultiu i d'alimentació]

Encara que l'aliment principal de l'espirulina és el carboni, en aquest capítol parlarem de l'alimentació no carbònica, sols la mineral. Per l'alimentació de carboni veure capítol 7.8.

El medi de cultiu inicial ens permet un creixement de l'espirulina fins a una concentració propera a 1 g/l (sense nitrat) i fins a 2 g/l (amb nitrat), però seria millor afegir al medi els elements nutritius que absorbeix l'espirulina abans d'esperar que el medi s'esgoti. Si s'afegeix urea (i en el seu cas, CO<sub>2</sub>, o sucre com a aport de carboni) de forma rutinària en funció de la collita desitjada o esperada per dia permet afegir la resta de nutrients un cop per setmana o cada quinze dies. Es necessari afegir urea (o, en el cas, sucre) a primera hora del dia, just després de recollir i respectant la regla donada (uréethéo).

La utilització de nitrats no requereix les mateixes precaucions que la urea, però aquesta és més barata i més eficaç. Ja que redueix la formació de grumolls (important sobre tot a les varietats tipus Lonar) i reforça el vigor, a vegades insuficient, de l'espirulina (sense amoni, especialment l'onduladea, corre el risc de no ser fàcilment premsable); per altra banda, la urea aporta  $CO_2$  "gratuït". Evidentment es pot utilitzar amoníac al lloc de la urea, però encara amb més precaucions: en aquest cas el gota a gota és pràcticament necessari. El amoníac té l'avantatge sobre la urea que

s'hidrolitza poc a poc (una dosi més forta d'urea pot ser una "bomba programada" que produeix amoníac).

El bicarbonat d'amoni és una possibilitat interessant per aporta a la vegada el nitrogen i el CO<sub>2</sub> "gratuït" (el doble que la urea).

Tots els ingredients han de dissoldre's abans de ser introduïts al cultiu, i mentre s'introdueixen s'ha d'agitar el cultiu. [NOTA: L'addició de petites quantitats de productes àcids, com el àcid fosfòric, en un medi que conté bicarbonat de sodi i carbonat de sodi transforma una part del carbonat en bicarbonat sense perdre CO<sub>2</sub>. Això s'aplica tant al preparar el medi de cultiu com en afegir l'aliment. Però si preparem una mescla on l'aport d'àcid és important, hi haurà una pèrdua de l'alcalinitat i el CO<sub>2</sub>, lo que és una pena. Per tant, afegeix-hi l'àcid directament al tanc.]

Basant-se en la composició elemental de l'espirulina, aportada a l'Annex-19 i a les indicacions del capítol 4.1 sobre el medi de cultiu, és fàcil calcular les necessitats minerals segons els productes (fertilitzants) que disposem. Considerarem la puresa química dels productes, les pèrdues durant la producció (foto-oxidació, consum de paràsits, pèrdues físiques i químiques) i durant la recol·lecció. No tindrem en compte les aportacions d'aigua que afegim, a no ser que l'evaporació sigui molt elevada o que es tracti d'una aigua molt mineralitzada. Com un exemple que es pot utilitzar freqüentment, aquí hi ha una fórmula calculada per cada cas d'una aigua no ferruginosa i de duresa dèbil, per a una evaporació mitjana i una taxa de pèrdues habituals d'una petita explotació:

Grams por kg sec d'espirulina produïda:

Urea = 300 g
Fosfat mono-amònic = 50 g
Sulfat dipotàsic = 40 g
Sulfat de magnesi = 30 g
Clorur de calci = 20 g
Fétrilon 13 (o Ferfol) = 4 g
Solució d'oligoelements (segons Annex 26.2) = 50 g

El fosfat mono-amònic sovint es pot substituir per àcid fosfòric, amb una quantitat que depèn de la concentració de l'àcid: per exemple 57 g d'àcid al 75% reemplaçarien 50 g de fosfat mono-amònic.

El clorur de calci es pot substituir per 30 g de nitrat de calci si aquest producte estigués disponible, o per 13 g de calç apagada.

El ferro es pot introduir en forma de 50 ml de solució de ferro quelat amb 10 g de ferro/litre o bé 77 g de Ferfol/litre.

#### N.B.

- 1. Aquesta fórmula per la nutrició no inclou les necessitat de nutrients corresponents a les purgues del medi de cultiu, que hauran de ser afegides ocasionalment.
- 2. La dosis de ferro aquí senyalada correspon a 500 ppm de ferro a l'espirulina; aquest pot ajustar-se segons es vulgui, certs metges prefereixen un contingut inferior en ferro, d'altres de 1000 o fins a 1500 ppm. Per a continguts tan alts en ferro l'adició d'un quelat (EDTA, àcid cítric, suc de carambola o de llimó) o l'ús de ferro quelat és preferible (del tipus Ferfol o Fetrilon) al sulfat de ferro. Sovint s'ha observat que la introducció de ferro (no quelat) en forma de sulfat és molt més eficaç gota a gota (i amb agitació continuada), però aquesta observació no s'aplica si s'utilitza ferro quelat.

3. La dosis teòrica de urea és de 270 g/kg, però especialment per a pHs baixos resulta necessari un excés si s'observa tendència a la formació de grumolls. L'excés d'urea inutilitzada es transforma en nitrats o s'allibera a l'atmosfera en forma d'amoníac. És millor suprimir la injecció d'urea si es detecta una olor d'amoníac a cultiu, o bé, si podem dosificar l'amoni, seguir la regla donada a l'Annex 18 (N.B. b). La urea és la font més barat de CO<sub>2</sub> (a part de l'aire), i si la temperatura del recinte és bastant elevada s'arriba a consumir fins a 800 g de urea/kg d'espirulina, i la part que no és consumida per l'espirulina es converteix en nitrats (reduint l'alcalinitat, segons l'equació:  $CO(NH_2)_2 + 4 O_2 + 2 Na OH = 2 NaNO_3 + 3 H_2O +$ CO<sub>2</sub>) de fet, el balanç de nitrogen indica que aparentment es forma més nitrat. Per exemple, hem pogut mesurar en un recinte al qual es van afegir 600 g de urea/kg d'espirulina una "fixació" de nitrogen corresponent a 6 vegades el nitrogen contingut a l'espirulina produïda! Normalment, no pot tractar-se de la fixació de nitrogen de l'aire, ja que l'espirulina no té heterocists, encara que sabem que la fixació de nitrogen sense heterocists és possible en alguns cianobacteris en certes condicions. Tot i això, el nitrat no sembla formar-se en absència total d'urea. Cal anotar que el nitrat format pot servir de font de nitrogen per la reducció biològica per l'espirulina, restituint l'alcalinitat: NaNO<sub>3</sub> + 4H<sub>2</sub> = NaOH + NH<sub>3</sub> + 2H<sub>2</sub>O, però això no es donarà mentre hi hagi urea, ja que l'espirulina prefereix utilitzar el nitrogen amoniacal abans de fer el treball de reducció, massa costos a nivell energètic (glucosa). En aquest cas, es produeix una acumulació de nitrat al medi de cultiu que hem mesurat fins a 5-10 g de ions de NO<sub>3</sub>!

Quan es disposa de nitrat no molt cars, es recomana una alimentació mixta (50% nitrat, 50% amoniacal) com la que es practica amb èxit a la granja de mar de Costa de Marfil: s'afegeixen, per cada kg d'espirulina, 140 g de urea + 500 g de nitrat de potassa. Això evita l'acumulació de nitrat al medi, però no evita que augmenti la salinitat i el pH degut a la potassa introduïda. Cal anotar que si el nitrat està molt car o no disponible, podem arreglarnos-les utilitzant una alimentació mixta urea/nitrat utilitzant el nitrat acumulat en una altre recinte que sols s'alimenti de urea (però això obliga a fer mescles de recintes). També es pot utilitzar nitrat d'amoni, una fertilitzant habitual, però compte: pot ser explosiu!

El bicarbonat d'amoni, NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, és millor que la urea, ja que aporta el doble de CO<sub>2</sub>; és un producte potencialment fàcil d'aconseguir, ja que és un intermediari obligat en la fabricació de carbonat de sodi per el mètode Solvay, però no està disponible comercialment a tot arreu (Solvay-Anglaterra el ven). Fa falta 2,6 vegades més de bicarbonat d'amoni que de urea en pes. També podem utilitza acetat d'amoni, que aporta quatre vegades més de carboni que la urea.

Veure a la N.B (fosfat) els possibles efectes d'un excés d'amoni a l'equilibri PO<sub>4</sub>/Mg/NH<sub>4</sub> al medi de cultiu

- 4. Segons la qualitat i l'anàlisi de l'aigua aportada per compensar l'evaporació, les dosis de sulfats, de magnesi, de calci i de ferro poden reduir-se o suprimir-se. Si l'aigua és molt calcària, pot ser necessari augmentar la dosi de fosfat per compensar la precipitació eventual de fosfat de calci, seguint la recomanació donada per cada medi de cultiu: compensar el calci amb la meitat del seu pes en fòsfor; es recomana dosificar el fosfat en aquest cas una vegada al mes quan el cultiu sembli consumir-lo.
- 5. El ús de certs fertilitzant agrícoles de dissolució lenta (slow realese) o poc solubles, superfosfats, fosfats diamònics (veure paràgraf 6 a sota) sulfats de potassa, no es recomanen ja que generalment content additius de color i/o aromatitzants i olis que embruten el medi de cultiu, formant una pel·lícula greixosa a la superfície del recinte (disminuint l'absorció d'àcid carbònic i l'alliberament d'oxigen). A més a més, el fertilitzant d'aquest tipus poden contenir metalls pesats (especialment cadmi present als fosfats natural), perillós ja que és ràpidament absorbit per l'espirulina. Aquestes observacions no són aplicables a: la urea, el sulfat de magnesi, el sulfat de potassa, el nitrat de potassa, el nitrat de Xile, el fosfat mono-amònic o

- diamònic, el clorur de potassa venut com fertilitzant agrícola soluble o granular. El sulfat de ferro agrícola és de qualitat dubtosa des del punt de vista de puresa (després de la dissolució necessita al menys una decantació o filtració.
- 6. Per utilitzar el fosfat diamònic granular com font de fòsfor, sinó tenim altre cosa, F. Ayala procedeix de la següent forma: en un litre d'àcid clorhídric 0,5 N (50 ml d'àcid concentrat al 33% diluït en un litre d'aigua), afegir 250 g de fosfat mòlt i portar-ho al punt d'ebullició; eliminar la capa grassa superficial i recuperar el líquid decantat; repetir-ho una segona vegada amb els fangs; mesclar els dos líquids decantats, uns 1,5 litres donen aproximadament 50 g de fòsfor dissolt utilitzable, corresponent a 5 kg d'espirulina. Verificar que l'espirulina produïda a partir d'aquesta font de fòsfor s'ajusti a la regulació en quan a cadmi.
- 7. L'aport d'oligoelements a través de traces que conté l'aigua corrent i les sals podria ser insuficient. Si l'aigua corrent és massa pura (aigua de pluja per exemple) podem utilitzar sal no refinada (i eventualment un mica d'argila i/o aigua de cendres) per aportar oligoelements, sense oblidar-se de practicar les purgues corresponents en el cas de salinitat exagerada. Però també podem aportar una part del nitrogen mitjançant el nitrat de Xile (molt ric en oligoelements) o bé podem utilitzar concentrats d'oligoelements preparats a partir de productes químics (veure capítol 7.7 i Anex 26).
- 8. L'aport de calci (calç o millor nitrat o clorur de calci) sols es necessita si l'aigua corrent no en conté suficientment, o si volem una espirulina enriquida en calç com és el cas de molt productors industrials.
- 9. El consum de clorur és teòricament de 7 g de NaCl/kg d'espirulina, però és pràcticament inútil afegir-lo excepte en el cas d'una longevitat extraordinària del medi de cultiu. És especialment inútil afegir-lo en cas d'utilitzar orina o aigua de mar.
- 10. Donat que el medi conté simultàniament els ions amoni (NH<sub>4</sub>), magnesi (Mg) i fosfat (PO<sub>4</sub>) típic dels pHs enter-mitjos, les concentracions d'aquests ions són interdependents, ja que la solubilitat del fosfat mixt de amoni i de magnesi és extremadament dèbil. Per evitar desequilibris, s'ha de mantenir una dèbil concentració d'amoni. La concentració d'amoni serà automàticament dèbil si s'afegeix la urea en petites fraccions i el pH és elevat (una part de l'amoni es transformarà en amoníac a pH elevat). Es recomana mantenir les concentracions de Mg aproximadament iguals a la concentració de fòsfor. En l'absència d'amoni, els fosfat de magnesi també és insoluble.
- 11. Per simplificar l'explotació, podem simplement alimentar l'espirulina una vegada al més, però això implica fluctuacions bastant grans en la seua composició, especialment de ferro. És per això que es recomana alimentar-la d'una forma més freqüent. Si s'utilitza la urea, s'ha d'aportar diàriament. La referència per l'aliment que s'ha d'afegir no és la quantitat recollida, sinó la que s'ha produït per fotosíntesis (hi ha un diferència significativa si la concentració d'espirulina varia notablement).

#### ¿I si no tenim productes químics?

És suficient afegir 17 litres d'orina (és una mitjana de les dosis, ja que la composició de l'orina varia segons el subjecte i la seua dieta) per kg d'espirulina recollida, a més a més del ferro.

L'orina aporta també el carboni, lo que redueix la tendència del pH a pujar i permet augmentar la productivitat a 2 g/m²/dia en l'absència d'altres alimentacions carbonatades. Aquesta solució sols es suggereix per situacions de supervivència, o per alimentar a l'espirulina destinada a l'alimentació animal, o per aquells que prefereixin una espirulina veritablement "eco-lògica". S'ha d'afegir la dosis regularment (com amb la urea) i afegir l'orina després de la recol·lecció (en qualsevol cas, no per la nit) i solament si ha bones condicions climàtiques; en la fase de recol·lecció es recomana

limitar la productivitat a 7 g/m²/dia, no afegir sucre i mantenir una profunditat bastant elevada (mínim de 20 cm) així com una concentració d'espirulina d'almenys de 0,4 g/l.

Pel consum personal, no és necessària l'esterilització de l'orina, si el subjecte té bona salut (l'autor mai ha esterilitzat la seua orina) a no ser que sigui indispensable per raons psicològiques. La esterilització pot efectuar-se afegit 3,5 g de sosa por litre 24 hores abans de la utilització (en augmentar el pH a 12-13 s'insolubilitza una part dels components: no filtrat per a no perdre'ls i homogeneïtzar abans d'utilitzar-ho. Hi ha qui diu que en països com l'Àfrica negra, l'orina podria contenir certs organismes resistents a aquest tipus d'esterlització per pH elevat: pendent de verificació. En qualsevol cas, *Schistosoma haematobium*, que els seus ous contaminen l'orina de les persones infectades de esquistosomiasis, s'hauria d'eliminar filtrant l'orina amb una tela de 30 μm, abans de l'esterilització amb sosa. L'altra paràsit que podria trobar-se a l'orina és el richomonas vaginalis, aquest no és eliminat per aquesta filtració, però no sobreviu més de 25 hores a l'orina. Cal anotar que aquests tractaments per esterilització i filtració encara no han sigut validats pel que fa a la qualitat d'espirulina produïda; especialment, no sabem si el tractament de l'espirulina amb sosa induirà transformacions químiques indesitjables (en tot cas no impedeix que l'espirulina prosperi) Per més informació veure les N.B 1, 2 i 3 de sota.

Una aplicació especial de la utilització de l'orina per fer créixer espirulina és el reciclatge dels residus biològics dels astronautes en futures estacions espacials: l'espirulina és el millor medi per a la vegada re-transformar el CO<sub>2</sub> amb oxigen i els residus en aliments. Aquest mètode s'està estudiant en grans laboratoris de diferents parts del món.

La producció d'espirulina "ecològica" també és possible sense necessitat de recórrer a l'orina, utilitzant sols productes "natural" (veure capítol 4.3) com la trona, el sulfat de magnesi que es produeix als aiguamolls salats o que s'extrau dels residus de l'extracció d'aigua de cendres, i l'àcid fosfòric extret de la pols dels ossos, així com les fulles de les especies vegetals comestibles. El nitrat de Xile no ha set certificat com a "ecològic", mentre que el Ferfol sí que està admès. Les fulles verdes d'espècies no tòxiques són una bona font de nutrients (inclosos el carboni i el ferro), i els nostres assajos d'utilització afegint-ho directament al cultiu han sigut positius, però van tenir que ser interromputs por embrutar excessivament el medi (que hauria necessitat un sistema de depuració que no teníem). Hi ha qui experimenta amb diferents purins de plantes. El té de compost (compost tea) seria una bona solució, però també sembla necessari disposar d'un sistema de depuració, encara que sols sigui per alliberar els elements nutritius continguts en els nombrosos microorganismes d'aquest té. Resumint, fer créixer l'espirulina a partir únicament de plantes és factible encara que sigui bastant complicat.

N.B.

- 1. Com l'orina no conté ferro, el seu ús no evita l'addició de ferro.
- 2. L'orina utilitzada ha de tenir una olor i colors normals; provenir de donants sans que no prenguin medicaments, lo qual podria implicar toxicitat per l'espirulina, especialment els antibiòtics.
- 3. Es diu que la sang dels animals seria una bon aliment per l'espirulina, i que es podria utilitzar en dosis relativament importants (50 ml/l de medi de cultiu). Atenció a possibles contaminacions. Nosaltres no hem intentat mai utilitzar sang.
- 4. És perfectament possible "combinar" productes químics i productes naturals.
- 5. La utilització d'orina com a únic fertilitzant és convenient sobre tot en aigua poc calcàries (20 mg calci/litre), però no en aigua massa calcàries; en efecte l'aport de calci i magnesi per part de l'orina és una mica dèbil i una aportació a l'aigua és convenient, però tingueu en compte que l'excedent de fòsfor de l'orina és massa dèbil com per compensar una dosi forta de calci.
- 6. La disenteria es contagia pels excrements, no per l'orina.

# 7) OPERACIÓ I MANTENIMENT DEL CULTIU.

#### Sumari:

- 7.1) Recol·lecció
- 7.2) Agitació
- 7.3) Evolució del pH
- 7.4) Ombratge
- 7.5) Nivell d'aigua
- 7.6) <u>Ferro</u>
- 7.7) Oligoelements
- 7.8) Com augmentar la productivitat amb l'aportació de carboni
- 7.9) Exopolisacàrids (EPS)
- 7.10) Anomalies
- 7.11) Contaminació per petits animals
- 7.12) Contaminació per <u>Dretes</u> o algues <u>estrangeres</u>
- 7.13) Contaminació per microorganismes
- 7.14) Intoxicació química
- 7.15) Falta d'oxigen (<u>hipòxia</u>)
- 7.16) Malalties
- 7.17) Metalls pesants
- 7.18) Neteja de les basses

#### 7.1) Recol·lecció

Es recol·lecta l'espirulina de manera que es mantingui la concentració d'espirulina al nivell desitjat, per exemple entre 0,3 i 0,7 g/L (disc de Secchi entre 2,5 i 5,5) i no forçosament tots els dies. Si el cultiu té problemes, s'ha de tenir en compte a l'hora de mesurar la concentració amb el disc de Secchi (espirulímetre). En absència de recol·lecció, amb nutrients suficients, la concentració d'espirulina creix fins a arribar l'equilibri entre la fotosíntesi i la respiració, que correspon al voltant de 250 g d'espirulina/m² de bassa.

No és bo pel cultiu de restar un llarg temps sense ser recollida a unes concentracions altes: això podria causar la mort de l'espirulina per asfixia. Inversament, no és bo abaixar la concentració per sota de 0,4 g/L com a màxim de 0,3 g/L. La productivitat és més elevada a baixes concentracions, però el cultiu és menys estable i l'espirulina té un contingut menor de ficocianina (pigment blau.)

## 7.2) Agitació (veure també Capítol 3.4)

Agitació manual: s'ha d'agitar (almenys!) 4 cops per dia, però la freqüència depèn de les condicions de cultiu. L'agitació ha d'augmentar amb la intensitat lluminosa i també conforme augmenten les partícules flotants.

A la meitat d'una jornada molt calorosa, sense ombra, l'agitació ha de ser molt frequent (al mínim 10 cops per hora) o gairebé contínua. Depenent de les condicions ha de ser agitada molt poc, ja que com més calent és la capa superior, més produeix.

Si es disposa d'un mode d'agitació elèctric que no danyi les cèl·lules d'espirulina (per exemple un airejador d'aire, hèlix) l'agitació pot ser continua (amb parades de 15 minuts/hora preferiblement.) Amb les bombes d'aigua és millor no agitar continuadament especialment amb les varietat espirals (per exemple la Lonar) fer-ho sols 15 minuts/hora d'agitació. L'agitació amb bombes d'aigua d'aquari es possible amb les espirulines ondulades (Paracas.)

Durant la nit l'agitació teòricament es pot aturar, però si és possible fer dos o tres agitacions nocturnes que són beneficioses per disminuir el risc de la formació de grumolls i millorar l'oxigenació del medi. L'agitació continua i nocturna, quan és possible, afavoreix l'autodepuració del medi, tot i això disminueix sensiblement la productivitat a causa del procés de respiració nocturn de l'espirulina, quan consumeix  $O_2$  i produeix  $CO_2$ .

La productivitat d'un cultiu intensiu depèn fortament de l'agitació, sense que s'hagi quantificat realment el seu efecte. Molts experiments han obtingut unes produccions rècords (des de 30 fins 40 o 50g/dia/m²!) amb unes condicions d'agitació excel·lents, en general en petites basses, o en tubs de laboratori.

Dins el programa de simulació presentat al capítol càlcul, la convenció següent ha estat adoptada per tractar aquest problema:

- Per les piscines ordinàries, de les quals tenim l'experiència, el grau d'agitació està definit per la velocitat mitjana de desplaçament del cultiu, fins a 30cm/s
- Pes les piscines amb sistemes d'agitació perfeccionat, caracteritzem també el grau d'agitació per la velocitat, però cal fixar més enllà de 30 cm/s; per convenció, el modele multiplica aleshores la velocitat per 8 (per exemple, si fiquem la velocitat a 40, el model aplicarà 320), lo que condueix a una elevada productivitat citada per diferents autors però la qual no creiem realista a la pràctica.

#### 7.3) Evolució del pH

Un bon test de creixement d'un cultiu és el seu augment del pH. En l'absència de suplement de carboni i si no hi ha carències de minerals per una alcalinitat propera a 0,1N, un altura de líquid al voltant de 20cm i una concentració d'espirulina al voltant de 0,4 g/L, amb una temperatura i una il·luminació elevades, l'augment del pH normal es situa al voltant de 0,1 unitat/dia quan el pH està entre 10 i 10,6. Depenent de la presència de matèries orgàniques dins el medi, elles es podrien oxidar per alliberar el CO<sub>2</sub>, que contraresta l'augment del pH, i pot també provocar una baixada del pH.

Una altra forma de verificar que la fotosíntesis activa és d'observar la quantitat d'oxigen que s'ha format a la superfície de la bassa en absència d'agitació.

## 7.4) Ombratge

En l'absència de suplements de carboni el pH es pot elevar fins a 11,5 i més, però l'espirulina no pot suportar per gaire temps un pH superior a 11,3 i es recomanar limitar el pH a valors per sota de 10,8. Un semi-ombratge normalment ajuda a un manteniment del pH per sota d'11. Si l'agitació és bona es pot prevenir l'augment excessiu de pH sense ombrejar i mantenint una concentració d'espirulina elevada (>150 g/m².) Es a dir una concentració en espirulina al voltant del 0,7g/L per una altura de líquid de 20cm, és el que es pot anomenar "auto-ombratge"

L'ombratge és necessari quan la temperatura és massa baixa (<10°C) i hi ha un gran sol; de no ser així el cultiu pot morir fàcilment per fotòlisis. Per precaució s'haurà de mantenir la claredat de la bassa per sota d'un cert límit que depèn de tres factors simultanis: la temperatura, la concentració d'espirulina i la concentració d'oxigen dissolt. Com més baixes és la temperatura i la concentració d'espirulina i com més alta és la concentració d'oxigen dissolt, més s'haurà d'ombrejar per tal d'evitar o reduir la mortalitat de l'espirulina.

Sense que es puguin donar xifres exactes, és recomanable mantenir l'oxigen per sota de 20 ppm (per una forta agitació) i la il·luminació per sota de 30 klux, sobretot si la temperatura és inferior a 25°C i la concentració d'espirulina és inferior a 0,3 g/l.

S'ha d'ombrejar per economitzar l'evaporació de l'aigua a l'estació seca, o si la temperatura sol depassar els 38°C dins el cultiu.

Un cultiu amb un ombratge és més fàcil de recol·lectar i la qualitat de l'espirulina és millor (més rics en pigments) però també implica una disminució de la productivitat, que pot ser reduïda.

# 7.5) Nivell d'aigua

S'ha d'afegir aigua dins la bassa (preferiblement al vespre) per tal de compensar l'evaporació i mantenir el nivell desitjat. No s'ha d'afegir més d'un 10% en volum de la bassa al dia. Si l'aigua afegida és molt calcària es produeixen els fangs minerals a la bassa, i a la llarga és preferible d'eliminar-les, però al mateix temps el fet de tenir l'aigua calcària té dos avantatges: aquest aigua fa una aportació de bicarbonats i sobretot la precipitació de bicarbonat de calci a ajudar a flocular les impreses com les EPS.

L'aigua assenyalada conté també sals solubles que augmenten poc a poc la salinitat (també la utilització de nitrat com a font de Nitrogen o de bicarbonat de sodi com una font de carboni augmenta la salinitat). En aquest cas s'hauria de practicar les purgues per prevenir que la salinitat passi de 30 a 50g/l. Però l'aigua apuntada (excepte l'aigua de pluja) aporta també els oligoelements benèfics. Si l'evaporació és notable i si l'aigua aportada és molt calcària, hi ha el risc de

coprecipitació de fosfat de calci, vigilar de prop el tenir el fosfat adequat al medi i afegir-ne a les necessitats del cultiu.

A les basses obertes, la pluja és beneficiosa sempre que sigui moderada (es recomana que no passi del 10% en volum de la bassa diari) però una dilució massa brusca i forta del medi de cultiu fa caure l'espirulina al fons. Al final de l'estació de pluges hi ha l'interès de guardar el nivell màxim permès per la bassa (això permetrà economitzar l'aigua a l'estació seca). Si la font d'alcalinitat és molt difícil, i/o si la pluviometria no és excessiva, es pot admetre a la bassa tota la pluja que hi cau, mirant de purgar el medi de cultiu per evitar el desbordament de la bassa: aquestes purgues es fan quan s'està recollint: sense reciclar el filtratge, o bé aspirant el fons per eliminar els fangs, després es tornarà a ficar a la bassa les sals que corresponent al volum de medi de cultiu eliminat.

Aquestes purgues mantenen la qualitat del medi de cultiu i porten els oligoelements continguts a títol d'impureses dins les sals senyalades. Si no es disposa d'una concentració d'oligoelements es poden practicar les purgues amb el propòsit d'introduir els oligoelements amb l'aigua i les sals.

Un nivell d'aigua elevat (30 cm o més) redueix l'escalfament de la superficie en climes molt calents, i és probablement útil per tal de facilitat l'autodepuració del medi de cultiu (veure depuració.) Un nivell baix és interessant per reduir el consum de medi de cultiu, però necessita un fons ben pla (amb un punt més buit per facilitar la recollida de les partícules flotants i el buidatge de la bassa) les purgues suficients per mantenir la qualitat del medi i una vigilància de l'augment del pH, de la temperatura i de la concentració de nutrients per no sobrepassar els límits autoritzats.

En basses obertes, si les purgues no son necessàries per mantenir la qualitat del medi, i si els marges són suficientment alts, el nivell i l'alcalinitat varien durant el curs de l'any: s'arregla dient que el nivell mínim és suficient i per a que l'alcalinitat sigui suficients (>0,05) del nivell màxim.

## **7.6) Ferro**

L'espirulina és un dels aliments més rics en ferro. S'haurà doncs de proporcionar-ne molt, sota una forma assimilable, que no és evident a causa de l'elevat pH del medi de cultiu. Si l'espirulina no és prou verda fosc, pot ser a causa d'una manca de nitrogen, però també per una manca de ferro. (Una espirulina ben verda també pot ser que tingui quantitat de ferro feble, de 200ppm per exemple). Una concentració de ferro insuficient (per exemple <0,1ppm) al medi genera el trencament dels tricomes de l'espirulina que esdevenen molt llargs i d'altra banda frena la proliferació dels bacteris útil per netejar el medi.

De vegades, però rarament, hi ha suficient ferro a les sals i/o a l'aigua utilitzada. També pot haver-hi un excés si l'aigua és ferrosa, cas molt, molt rar.

El medi clàssic per aportar ferro és de preparar un solució de ferro a 10 g/l de la següent manera: en ½ litre d'aigua ficar 50 grams de sulfat de ferro hepta-hidratat + 20 ml d'àcid clorhídric concentrat o millor encara, 100 g d'àcid cítric de qualitat alimentària (l'àcid cítric és un bon quelat del ferro); completar-ho fins a 1 litre. [N.B. La puresa del sulfat de ferro venuts per tractar la gespa és sovint inadequat; s'ha de filtrar o decantar la solució a recórrer a sulfat pur.] L'ús de 100 ml de solució de ferro de 10 g/l per cada kg d'espirulina produïda correspon a 1000 ppm de ferro. A la pràctica 50ml són generalment suficients. Una altra opció és: 50 g de claus rovellats en 1 litre de vinagre i afegir el suc de 4 llimones, conservar-ho en un lloc no hermètic (així s'allibera l'hidrogen) i agitar-ho de tant en tant. Al cap de dos setmanes s'obté un xarop de claus al voltant de 10g/l de ferro que es pot utilitzar com una font "ecològica."

Un quelat com l'EDTA o l'àcid cítric fa el ferro més assimilable per l'espirulina, i fa igualment que el ferro de l'espirulina sigui més assimilable per l'ésser humà. (veure <u>Bibliographie : Manoharan</u>) El suc de llimó, que conté àcid cítric, té un poder quelatant pel ferro, al igual que alguns fragment aquosos de terra vegetal o d'argila esterilitzada per tindalització (és a dir, portats 10 minuts a 80°C un mínim de dos cop amb un interval de 24h)

També es pot utilitzar com un aport de ferro els productes comercials que content quelat de ferro, com el erucg, el Fetrilon 13 o el Ferfol al 13% de quelat de ferro a l'EDTA (que correspon a un àtom de ferro, o 56g, per molècula de sal disòlica de l'EDTA cristal·litzada a 2H20, o 372g) El seqüestrene 100 SG al 6% de quelat de ferro a l'EDDHA, que és més eficaç que l'EDTA en pH elevats, té l'inconvenient de donar un color roig al medi i no és recomanat.

La sang és també una font de ferro "biològica" molt assimilable (a 9 g/l) però nosaltres no hem assajat amb la seua utilització.

La dosis de ferro a aportar és un tema de discussió. Una dosi de 500 ppm sembla convenient. Si és possible i en cas de necessitat, d'obtenir l'espirulina extremadament rica en ferro (fins a 5000 ppm).

Com més regularment s'afegeix ferro més regular serà el contingut de ferro de l'espirulina. Si sols afegir el quelat de ferro un cop al mes, per exemple, el contingut en ferro de l'espirulina just després d'afegir-ne serà molt fort (per exemple de 1000 ppm) i serà molt feble just abans de tornar-ne a afegir (per exemple de 300 ppm).

El gota a gota és el millor mètode, ben agitat i afegit lentament dins el cultiu. (l'agitació és essencial).

Un article de Puyfoulhoux B. et al. (2001) tendeix a demostrar que la biodisponiblitat del ferro a l'espirulina és equivalent a la de la carn.

## 7.7) Els oligoelements

En lloc de sols comptar amb l'aigua i les sals per aportar els oligoelements necessaris pel creixement de l'espirulina, hi pot haver la possibilitat, de fer-ho mitjançant una solució concentrada d'oligoelements. Que té un cost molt baix per producció d'espirulina. L'addició dels oligoelements sembla un factor positiu per assegurar una bona recol·lecció i una bona productivitat de forma més regular, però també millora la qualitat nutricional del producte.

L'aport d'almenys els oligoelements majors (bor, coure, magnesi i sobretot zinc) es recomanable en cas d'una baixa taxa de renovació del medi després d'un llarg període. El risc de sobrepassar la dosi màxima permesa per un oligoelement, que estarà ja present amb una quantitat notable dins l'aigua o les sals utilitzable és molt baixa si la solució d'oligoelements és afegida amb proporció amb les recol·leccions; per exemple, fins a un quart o la meitat de les necessitats teòriques.

Serà més segur d'afegir sols el que fa falta al medi de cultiu, però per treballar d'aquesta manera serà obligatori de utilitzar mètodes analítics lluny dels mètodes artesans.

Existeixen diferents fórmules d'oligoelements. La més citada és la del medi de Zarrouk (veure <u>Anex 18</u>) però és inútilment complicat, i a sobre incomplet!!

L'aport de seleni es fa generalment per selenita de sodi, de manipulació delicada, donat que és molt tòxic, nosaltres preferim evitar-ho (seria necessari de treballar amb una màscara de gas per introduir el producte.)

Fa falta afegir Cobalt? És un tema de discussió lligat al fet de la vitamina B12 (la cianocobalamina, que conté el cobalt) és abundant dins l'espirulina, la cosa és que alguns reglaments limiten la ingesta d'aquesta vitamina; la vitamina B12 de l'espirulina serà rica en "anàlogues de la B12" llavors, segons alguns autors, s'hauria d'anar en compte. Els aclariments científics sobre aquest tema serien desitjables. Jacques Falquet va resumir molt bé l'estat actual del coneixement sobre aquest important tema de la següent manera:

- Una proporció variable (però forta) de la vitamina B12 present a l'espirulina és de fet un (o uns) semblants de la B12 que no té activitat a l'home.
- Aquesta proporció varia segons l'espirulina analitzada: la de Hawaii contindria el 36% de B12 activa.

- Les semblants de la B12 existeixen a nombrosos productes alimentaris i són naturalment detectables al plasma humà.
- La vitamina B12 presentada als comprimits multi-vitamínics es pot convertir espontàniament amb els seus semblants no assimilables.
- El perills reals dels diferents semblants de la B12 són actualment desconeguts (cap estudi clínic seriós).
- La literatura científica no aporta en cap cas problemes relacionades amb les semblants de la B12 de l'espirulina. (més de 30 anys de consum d'espirulina als països industrialitzats).
- La població de Kanem (on l'espirulina ha estat consumida tradicionalment) no semblen afectats per trastorns específics.

De totes manera el cobalt no sembla que sigui deficitari dins el medi de cultiu. La fórmula "J.P. Jourdan" omet el cobalt i el seleni.

Hi ha un bon consens sobre l'interès d'una dosi alta de zinc. (la fórmula "J.P. Jourdan" en proporciona un suplement molt baix). Un altre manera d'introduir el zinc proposat per J. Falquet és d'afegit 20 g de sulfat de zinc hepta-hidratat cada 50 g de sulfat de ferro dins la preparació de la solució de ferro aportada amb el mètode <u>clàssic</u>.

Una dosi de 500 a 1000 ppm de zinc dins l'espirulina seria convenient però una aportació alta de zinc al medi de cultiu pot portar seriosos problemes; Aquí hi ha l'avís de Jacques Falquet sobre el tema (2009):

"El nostres propers assajos deixen pensar que no és tant fàcil d'obtenir els nivells de zinc que enriqueixen el medi de cultiu: no solament el zinc es precipita (o en tot cas no és absorbit per l'espirulina després d'un cert llindar) però es presenta una certa toxicitat per l'espirulina. De fet jo penso que l'espirulina amb un nivell molt alt de ferro o zinc són obtingudes gràcies a un tractament post-recol·lecció: això no hauria de ser molt difícil, vist que la biomassa de l'espirulina es comporta com una resina d'intercanvi iònic. Per tant, seria suficient de dispersar la biomassa recollida (i rentar amb aigua salada per baixar el pH) dins una solució d'una sal metàl·lica adequada i deixar incubar-ho alguns minuts. Després d'una nova filtració, rentat, premsat i assecat, s'obtindria segurament el producte desitjat."

Si sols es disposa d'una font fiable de sals o òxid de zinc, podem provar de fabricar-ne atacant el metall de zinc per una àcid, però hi ha el perill de que el metall contingui massa plom.

Hi ha un mica de níquel dins l'espirulina, però s'ignora si aquest metall hauria de ser considerat com un oligoelement benèfic, o si és simplement absorbit: no ha estat inclòs a la fórmula "J.P. Jourdan" per raons dels possibles riscs de toxicitat a l'home.

Quina hauria de ser la puresa de les sals eventualment utilitzades per fer l'aport d'oligoelements? La qualitat "tècnica" és considerar suficient, tenint en compte les petites quantitats utilitzades. És innecessari l'ús d'oligoelements amb la puresa del tipus "per anàlisis"

Als països on l'accés als productes químics necessaris és impossible es pot renunciar a afegir els oligoelements, excepte el zinc, que es mereix que es facin molts esforços per tal d'obtenir-ne per afegir-ne.

# 7.8) Com augmentar la productivitat amb una aportació de carboni

L'aliment principal de l'espirulina és el carboni, i la font habitual és el gas carbònic. El mètode de cultiu més simple, on l'aliment carbonat ve de l'aire (que conté gas carbònic, però extremadament diluït), presenta una productivitat modesta, però la quantitat de proteïnes, és molt superior a aquells medis de cultiu agrícoles o hortícoles, que tenen una quantitat més elevada de calories alimentàries, en el seu defecte de proteïnes, i sense consumir més aigua, o igualment netejant-ho menys.

L'absorció del CO<sub>2</sub> atmosfèric es fa de dia i de nit, independentment de les variació diàries del temps, així doncs això no influeix a la productivitat mitjana d'aquest cultius (absorció del CO<sub>2</sub> atmosfèric); aquest últim no es veu afectat per temperatures excessives durant la nit (el pH baixa a causa de la respiració nocturna, però sense la pèrdua del CO<sub>2</sub> que serà utilitzat més tard). En aquests cultius és manté un pH al voltant de 10,6 o menys jugant amb l'ombratge.

Anotar que cada any el contingut de CO<sub>2</sub> a l'aire augmenta (està al voltant de 390ppm al 2009) que afavoreix l'espirulina. La productivitat obtinguda a partir de l'absorció de CO<sub>2</sub> de l'atmosfera es limita al voltant del 4/g/dia/m² si la superficie d'absorció es limita a la superficie de la bassa, però és possible millorar i augmentar la superficie de contacte entre el cultiu i l'atmosfera, per exemple provocant onades o afegint a la bassa una columna d'absorció: aquesta columna, plena d'anells Raschig o altres, i alimentar amb aire atmosfèric per la base. Però és molt probable que una columna com aquesta sigui més cara que una superficie de bassa suplementària donant el mateix augment de la producció. (a estudiar cas per cas)

Si l'atmosfera de la bassa comunica amb una font de CO<sub>2</sub>, com un compost de fermentació aeròbica, un graner, una combustió de gas propà, o una font d'aigua gasosa, el pH de la bassa pel bon temps serà més baix, i la productivitat augmentarà sensiblement. En el cas del gas de combustió està tractat quantitativament al programa de simulació de l'Annex.

Però també és possible augmentar la productivitat pel bon temps, passant per exemple de 12 o 15, a uns 20g/dia/m², si l'agitació és suficient, injectant el gas carbònic pur directament dins el cultiu per baixar el pH a 10 o menys. El consum del CO₂ és de l'ordre de 2 kg/kg d'espirulina (teòricament 1,71). El gas es posa en un plàstic flotant a la bassa, formant com una "campana" o una "tenda" quan el gas s'hi acumula. La superfície del plàstic flotant ha de ser del 3% de la superfície de la bassa. Es regula el cabal de gas per tal de que no s'escapi pels marges. S'ha d'evitar l'entrada de les bombolles d'aire i purgar una vegada al dia l'oxigen que s'acumula sota el plàstic. És interessant d'airejar el gas al fons de la bassa amb un difusor que doni unes bombolles molt fines. (si l'altura a travessar és superior a 30 cm podem obviar l'ús de la campana flotant de plàstic). Afegir que s'obté un millor rendiment d'absorció del CO₂ durant la nit gràcies a l'absència de l'alliberació d'oxigen dins el medi de cultiu. Una altra manera d'injectar el gas és d'introduir-lo dins un ventura a la sortida de la bomba i de fer passa la barreja al llarg de 2 m de tub.

Si no es disposa pas de gas carbònic en cilindres, però es produeix una forta fermentació alcohòlica a la proximitat de la bassa d'espirulina, serà suficientment fàcil de captar el gas carbònic pur produït per la fermentació, però la pressió serà massa feble per fer-la passar a través d'un difusor i la superfície del plàstic flotant haurà d'incrementar-se en la seua meitat, a menys que s'utilitzi un compressor d'aquari (airejador) o una bomba d'aquari equipada amb un dispositiu de succió de gas En aquest espai web canadenc hi ha descrit al detall com alimentar un hivernacle de CO<sub>2</sub>: <a href="http://www.omafra.gov.on.ca./french/crops/facts/00-078.htm">http://www.omafra.gov.on.ca./french/crops/facts/00-078.htm</a>.

Enlloc del gas carbònic es pot utilitzar el bicarbonat de sodi, però en aquest cas farà falta fer les purgues necessàries per mantenir la necessitat i un nivell acceptable (densitat del medi als voltants de 1015 g/l) i afegir els elements propis del medi de cultiu (a més del bicarbonat de sodi) corresponent al volum purgat. Fa falta de 2 a 6 kg de bicarbonat de sodi per kg d'espirulina, segons la productivitat desitjada. Aquest mètode és molt pràctic; i s'evita de vigilar el pH del medi. Les purgues previstes a l'apartat 7.5 (Nivell d'aigua) computen en el total de purgues a efectuar. Es pot simplificar el procés de purga si s'afegeix a l'alimentació de l'espirulina les sals perdudes a la purga, en aquest cas és suficient en substituir el volum purgat pel mateix volum en aigua; la fórmula d'alimentació prevista pels programes de càlcul en els Annexes A27 i A30 és establerta sobre aquesta base. La pràctica de purgues demana precaucions amb el medi ambient i l'entorn (veure apartat 4.5 a Depuració).

La productivitat és una funció inversa al pH, amb la resta de paràmetres fixats. Per altra banda la fotosíntesis consumeix el CO<sub>2</sub> i fa augmentar el pH. Així doncs si s'afegeix bicarbonat de sodi per compensar el CO<sub>2</sub> consumit:

 $2 \text{ NaHCO}_3 = \text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ 

En fer-ho, s'acumula el Carboni i augmenta la salinitat del medi i arriba un moment on s'ha de purgar el medi massa salat per substituir-lo per un medi nou, i així es mantenen el nivells de salinitat i pH gràcies a les purgues.

Cal anotar que aquestes purgues són por obtenir el valor de pH desitjat en el recinte. Per exemple si es vol obtenir el valor pH 10, el procés de purgar tindrà tant bicarbonat de sodi com de Carboni hagi sintetitzat l'espirulina. D'aquesta manera s'entén que si es treballa en un pH baix, es consumeix més bicarbonat de sodi. Com més elevada és la productivitat, més consum de bicarbonat de sodi, que en efecte comporta un augment de la quantitat de residus.

Aquest fet queda il·lustrat amb un petit càlcul quan es cultiva amb un pH 10 que correspon a la productivitat màxima (per sota de 10 no es millora la productivitat), en aquest valor de pH, quan no hi ha absorció de CO<sub>2</sub> de l'atmosfera (per simplificar els càlculs) es sap que el pH del medi de cultiu conté 7 mols de CO<sub>2</sub> per cada 10 mols de sodi en forma de bicarbonat de sodi + carbonat de sodi. En funcionament estable, no hi ha acumulació de sodi en el medi (les purgues equilibren les contribucions), així un balanç molar entrades/sortides del recinte dóna:

Entrades: 1 mol bicarbonat de sodi (= 84 grams) = 1 mol CO<sub>2</sub> + 1 mol NaOH

Sortides per les purgues: 0,7 mols CO<sub>2</sub> + 1 mol NaOH

Sortida de  $CO_2$  per la producció d'espirulina: 1 - 0.7 = 0.3 mols de  $CO_2$ , o en grams espirulina produïda =  $0.3 \times 44/1.8 = 7.33$  grams (en efecte 1 mol de  $CO_2$  pesa 44 grams i fa falta 1,8 grams de  $CO_2$  / grams d'espirulina)

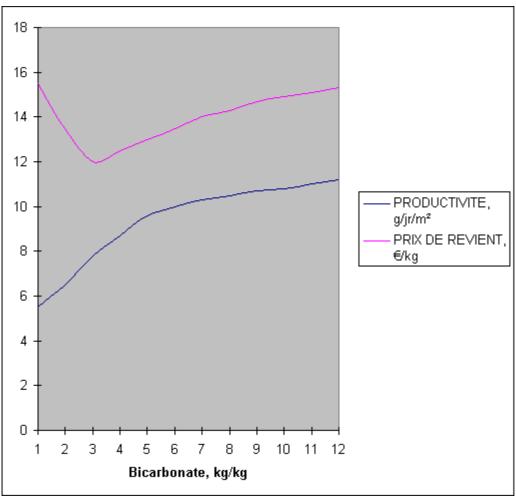
Consum de bicarbonat de sodi: 84/7,33 = 11,5 grams/gram d'espirulina.

Si s'utilitza el programa de simulació (veure apartat Càlculs) es pot establir la relació entre productivitat i consum de bicarbonat de sodi i trobar l'òptim des del punt de vista econòmic.

Per exemple el gràfic de sota s'ha establert per la zona de Koudougou amb un preu del bicarbonat de sodi de 0,5 €/kg; i mostra que el preu de cost (prix de revient) té un valor òptim al voltant dels 3 kg de bicarbonat de sodi/kg, amb una mitjana de la productivitat de 8 g/dia/m²:

S'ha de sospesar el tipus de mercat en el qual es produeix: si el mercat vol més espirulina, es pot fer créixer la productivitat mentre s'espera que els nous recintes siguin construïts. Inversament si hi ha una sobrecapacitat, es pot disminuir o fins i tot suprimir l'adició de bicarbonat de sodi (per en aquest cas, si no hi ha ombra, el pH s'estabilitzarà al voltant d'onze en el bon temps, i redueix el creixement del cultiu).

Si l'evaporació és notable i l'aigua afegida és molt calcària, el bicarbonat de calci precipita i es formen boles, i que té per efecte reduir les purgues i disminuir el consum de bicarbonat de sodi, i que per efecte de reduir les purgues i de disminuir el consum de bicarbonat de sodi, a través d'un augment de la quantitat de boles minerals que hauran de ser eliminades; en aquest cas existeix el risc de que coprecipiti el fosfat de calci: s'ha de vigilar de prop per tenir el fosfat suficient en el medi i afegir el fosfat necessari.



La proximitat a un llac de sodi natural ofereix una possibilitat molt interessant: consisteix en enviarhi les purgues. En general els llac sòdics es troben amb un pH als voltants de l'equilibri amb l'aire, és a dir pròxims a 10. El bombeig de l'aigua del llac dins el cultiu (amb un pH de 10,5, li aporta el CO<sub>2</sub>. L'aigua del llac s'ha de filtrar (per exemple amb un filtre de sorra) abans d'utilitzar-la per no tenir el risc de contaminar el cultiu. Si la composició no és l'adequada per l'espirulina, és convenient de corregir-ho amb l'adició del que es necessiti (en general serà urea i ferro) i de diluir-la per reduir la salinitat si és massa elevada. Les purgues que s'enviïn al llac son depurades per un procés biològic natural. El fet de disposar de CO<sub>2</sub> pràcticament gratuït permet de fer les aportacions de carboni importants per augmentar la productivitat en el bon temps i es pot arribar fàcilment a una productivitat al voltants de 12 g/dia/m² (mitjançant el bombeig al llac de l'ordre de 3000 litres per kg produït per una salinitat de l'ordre de 13 g/L.

El sucre constitueix una altra possibilitat d'introducció de carboni a l'alimentació (veure Jourdan 1996 a la bibliografia). El consum teòric, en absència d'altres fonts de carboni és de 1,11kg/kg. La massa de sucre que un recinte és capaç d'oxidar en un dia és del mateix ordre que de la producció d'espirulina. Tot i això, hi ha una dosi que no s'ha de sobrepassar. Afegir el sucre als matins només els dies de bon temps, per tal de no provocar les olors de fermentació, o d'un rendiment inadequat de la transformació de sucres en CO<sub>2</sub>, o bé una producció excessiva de boles flotants. (veure 7.15 Boles) sobretot si el medi conté d'altres matèries orgàniques. Per tal que el sucre fermenti i produeixi CO<sub>2</sub> sovint és necessari que el pH sigui interior a 10,8 (però també s'ha comprovat que el sucre baixa ràpidament el pH d'un cultiu que estava a 11,1). Si els ferments han estat esterilitzats per un pH massa elevat, es pot recomençar un altre cultiu amb un altre recinte. Es pot començar a "ensucrar" des de que el pH té un valor de 10,4; fan falta dos dies per veure l'efecte, regular després l'aportació en sucre per mantenir el pH als voltants de 10,4; una dosi mitjana de 0,6 kg/kg

d'espirulina produïda és suficient en general durant el bon temps. En efecte no és gens recomanable superar la dosis de 6 grams de sucre/m²/dia durant el bon temps (i si pot ser que no arribi a 3) si es volen evitar els efectes secundaris indesitjables com una terbolesa del medi de cultiu excessiva i les dificultats de recollir que poden arribar fins a l'impossibilitat de què la biomassa pugui ser premsada, sobretot a l'inici del període d'ensucrat. Aquestes dificultats poden provindre d'un consum de nitrats pels ferments. A l'inici de l'ensucrat, és interessant d'augmentar l'aportació d'urea. La quantitat de proteïnes de l'espirulina que s'obtenen amb el sucre és rigorosament idèntica a la què es produeix amb CO<sub>2</sub>.

El sucre es pot reemplaçar per la canya de sucre aixafada, a raó de 7 kg/kg de sucre (deixar la canya submergida un dia o més dins el recinte i retirar-la) o pel suc de la canya, però no s'han estudiat aquests mètodes.

Eviteu utilitzar la melassa, massa impura, per contra la mel o la glucosa pura serien excel·lents si fossin més barats. El sucre també pot ser per aportar per altres productes com el sèrum (no sobrepassar el 4 litres per kg d'espirulina, principalment el sèrum és ric en nitrats). Es pot obtenir per les fulles de plantes fresques: les fulles verdes submergies al cultiu (preferentment dins una xarxa) reben un atac pel medi bàsic que dissol en alguns dies tots els seus elements a excepció de la cel·lulosa, que constitueix un mode d'alimentar l'espirulina en carboni i també en elements minerals. Les fulles han de ser d'espècies vegetals escollides per la seua no-toxicititat i facilitat per dissoldre's; escollir les plantes comestibles, però no gaire conegudes com l'ortiga, l'amarant o la pota de gall. Dubtem de recomanar l'ús de fulles ja que hem notat que es formen punts negres no identificats a certes cèl·lules de les fulles: fa falta més investigació. Assenyalar també que el sucre i les fulles en una dosis elevada provoquen un augment de la terbolesa del medi, així doncs fa falta tenir-ho en compte en la mesura de la concentració pel disc de Secchi. Aquest tipus de cultiu és menys indicat: més de boles, filtració més lenta, risc més gran de microbis patògens resistents al pH elevats.

El reemplaçament del sucre per la glucosa permet teòricament reduir els inconvenients del sucre. La glucosa té la reputació de ser directament assimilable per l'espirulina. O bé s'oxida directament per l'oxigen de la fotosíntesi: els ferments esdevenen inútils: a partir dels quals un cultiu "millor" i més fàcil de filtrar i amb possibilitat de treballar a pH >10,8 si així es desitja. L'únic cop que hem volgut utilitzar la glucosa comercial pura a la dosi de 1 kg/kg es va agafar una mica com es va escollir amb el sucre; al cap de 15 dies el pH s'havia mantingut a 10 però la terbolesa del medi de cultiu havia augmentat a Secchi negre = 6 cm (la filtració encara resta fàcil). Aquesta terbolesa desapareix en alguns dies després de la reducció o supressió de l'adició de glucosa. Sembla que la glucosa reforça la salut de l'espirulina.

S'ha de mencionar que l'aportació de CO<sub>2</sub> de la urea no és negligible, i és la font de CO<sub>2</sub> més barata (veure apartat 6 N.B precaucions d'ús indispensables.

Es recorda que en cas d'alimentar l'espirulina per l'orina, aquesta ja aporta un carboni suplementari equivalent a 2 grams d'espirulina/dia/m².

Les boles del fons del recinte es van oxidant poc a poc (sobretot si es pren la precaució de netejar els fons i els costats del recinte de forma quotidiana), contribuint així a l'aport de CO<sub>2</sub>, i sobretot de reciclatge.

Per acabar s'ha de mencionar que és perfectament possible barrejar les diferents fonts de carboni.

De forma general, és recomanable no buscar una productivitat rècord ja que això augmenta la velocitat que el medi es torna salí, i sembla que també augmenta la freqüència de les mutacions; una productivitat del medi baixa té més possibilitats d'auto-purificar-se. De totes formes, la climatologia i la feble agitació fan que la productivitat mitjana no passi generalment de 7 g/dia/m² durant una sessió de producció.

#### 7.9) Exopolisacàrids (EPS)

L'espirulina segrega un exopolisacàrid sulfatat (un tipus d'alginat). Hipòtesi: l'EPS de poc pes molecular s'allibera a poc a poc al medi de cultiu, on es dissol primer polimeritzat i progressivament en micel·les cada vegada més grans, després en grups groc-amarronats de mida variable, microscòpics (visibles al microscopi després d'un tint amb tinta xinesa, ja que els EPS no es tenyeixen) o inclús visibles a simple vista; quan l'EPS es concentra al medi la seva solubilitat disminueix i es forma una espècie de coberta d'EPS en la superfície externa de l'espirulina. Els grums o les pells d'EPS poden taponar porus i filtres i alentir considerablement la filtració; lleugerament més densos que el medi de cultiu, poden dipositar-se al fons del tanc formant fangs, per finalment desplegar-se amb les bombolles del gas de la fermentació i flotar. El filtre de recollida deté els agregats massa grans. La producció normal d'EPS a pH baix i en condicions d'il·luminació forta és de l'ordre del 30% de la cèl·lula d'espirulina, però sembla que es forma encara més EPS a pH molt elevat; en condicions d'escassetat de nitrogen, la fotosíntesi produeix exclusivament EPS (Cornet J.F., 1992). Inclús en presència de nitrats, la carència d'amoni sembla afavorir la formació d'EPS, si les condicions de lluminositat i de temperatura són insuficients per la reducció de nitrats. En presència d'amoni, la proteinogènesi s'alenteix si la temperatura és insuficient, encara que menys que només amb nitrats. La carència de ferro sembla interferir també amb la proteinogènesi i, per tant, afavoreix els EPS. Segons l'article de Melissa 2004, pàgina 199, una concentració de nitrogen amoniacal superior a 65 ppm, amb una il·luminació superior a 33W/m² (molt dèbil!) afavoreix la formació d'EPS i grums; de fet, Cédric Leliévre, al juny de 2005, va enregistrar la formació de grumolls en un cultiu amb 2.5g de KNO<sub>3</sub> i 80 mg d'amoni, ben il·luminat.

Per lluitar contra l'excés d'EPS i els grumolls es necessita amoni, encara que no massa (una dosis de 3 a 15 ppm és convenient) i evitar que el pH sigui inferior a 10,2. L'ideal seria alimentar-ho amb urea (o amoníac) gota a gota. Sovint hem constatat que l'addició brutal d'amoníac a un cultiu que sofreix un excés d'EPS (difícil filtració o premsat) és una forma ràpida de millorar el seu estat. Les quantitats d'amoníac a 22º (és a dir 20,5% de NH<sub>3</sub>) suportades depenen molt del pH: 0,25 a un pH=10, i 0,17 ml/litre a un pH igual o superior a 10,3 (per arribar a una concentració de 30 ppm de NH<sub>3</sub> lliure en un medi que no en tingués en un principi).

Per reduir els EPS tendim a utilitzar un excés d'urea o amoni, el qual s'oxida a nitrats, al cap d'alguns mesos podem trobar concentracions de 5 a 10 g de nitrats per litre! Serà millor aportar el nitrogen en forma amoniacal (urea) i en nitrats, sense excés: això és el que es practica amb èxit a "La granja del Mar" (Ferme de la Mer) a Costa de Marfil. Com el nitrat és més car i de vegades no disponible, podem intentar simplement reduir l'excés d'urea.

És evident que una alta producció d'EPS és indesitjable, no tan sols per la pèrdua de rendiment, sinó per què es diposita al medi de cultiu i complica la recol·lecció.

Els EPS són biodegradables de forma més o menys ràpida segons les circumstàncies, el que limita la quantitat que es troba a l'espirulina recollida. Una espirulina amb un contingut proteic del 60% contindrà un 30% d'EPS (Melissa 1996, pàgina 90).

La biodegradació dels EPS s'afavoreix raspallant a diari el fons i les parets del recinte.

L'addició de ions de calci provoca la precipitació de carbonat de calci, i permet eliminar part dels EPS per floculació.

La presència de certes quantitats d'EPS sembla facilitar la recollida. Amb una varietat espirada, l'excés d'EPS provoca a vegades que l'espirulina floculi, formant grumolls verds flotants. Aquests són fàcils de recollir amb el sedàs, on formaran aglomerats semblants a "boles": si no s'han format simultàniament grumolls flotants, podrem unir-los a la biomassa recollida i filtrar-los amb l'ajuda d'un extrusor substituint la seua cadena per un sedàs. La qualitat de l'espirulina recollida d'aquesta forma és una mica menor que la normal (un anàlisi fet al juny del 1999 sobre el producte sec va donar un resultat del 52% de proteïna i una mica més de microorganismes aerobis). Podríem témer que la formació de grumolls augmenti el percentatge d'espirulina filamentosa: l'experiència, després d'una enorme producció de grumolls (octubre 1999) ens ha demostrat el contrari. L'augment del pH i la temperatura, l'addició de ferro (si en falta) i sobretot l'addició d'urea i amoníac combaten de forma efectiva aquests grumolls; es segueix la regla: "augmentar la urea si hi ha grumolls verds o una capa flotant, baixar la urea si se sent una olor a amoníac. Una dilució brusca i/o una disminució brusca del pH poden provocar també la floculació d'espirulina en forma d'espirulina en grumolls verd flotants.

Un excés d'EPS provoca que l'espirulina es torni apegalosa, capaç d'embossar els porus dels filtres, i fa impossible filtrar la biomassa per pressió, mentre que amb una quantitat menor d'EPS es pot confondre amb agregats d'algues contaminants com la microcistis, molt tòxiques, per lo que necessitaríem fer test de toxicitats en cas de dubte, encara que nosaltres mai hem vist que s'hagi provat un cas de toxicitat.

La bibliografia sembla indicar que els polisacàrid (endo i/o exo) de l'espirulina presenten propietats terapèutiques interessants: a l'espera de confirmació.

#### 7.10) Anomalies

En cas de dubte sobre si tot va bé, està bé comprovar el contingut de fosfat del filtre i, si és dèbil, reajustar el fosfat; si no disposem d'un test de fosfat, podem intentar reajustar-lo per a reactivar el creixement. Això és útil essencialment si s'ha utilitzat una aigua molt dura (calcària), ja que el fosfat de calci tendeix a precipitar.

Si un cultiu es torna groc-amarronat caqui sense que s'aturi la fotosíntesi, segurament falti nitrogen. L'excés de llum, sobretot a temperatures baixes, o en absència d'agitació, quan la concentració d'espirulina ja és dèbil, on es manté un pH superior a 11,3 durant un període prolongat produeix una decoloració seguida de la destrucció progressiva de l'espirulina. Si moltes cèl·lules d'espirulina s'han allisat o destruït, el medi de cultiu s'embruta (groc-turbi, un mica viscós, o blanc com la llet diluïda, o pel contrari marró, pudorós), fermenta (solta bombolles inclús per la nit) i la filtració i/o el premsat després de la recol·lecció es tornen difícils, més aviat impossibles.

En general, el cultiu pot recuperar-se per si mateix en unes tres setmanes. Preferentment de repòs en condicions de llum i temperatura suaus, a condició de que no tingui carències (de nitrogen i ferro principalment). La pràctica de purgues del medi pot ajudar a la recuperació del cultiu; ressembrar pot ser particularment eficaç. Si no recomença, el medi probablement s'hagi tornat tòxic per l'espirulina: drenar. Un drenatge total de tant en tant és una manera potent, encara que costosa, d'evitar anomalies al medi.

Si el cultiu conté molta espirulina trencada o en petits fragments, això pot donar-se per un excés de llum (sobre tot matinal) o a una agitació massa brusca, o inclús una falta de potassa. L'espirulina anormalment llarga pot ser una senyal de falta de ferro, a no ser que es tracti d'un cultiu de creixement dèbil.

L'espirulina de certa forma (en espiral, per exemple) flota habitualment a la superficie del medi de cultiu, mentre que d'altres (ondulades, filamentoses) es distribueixen pel cultiu (encara que floten, normalment). Si l'espirulina cau al fons del recinte, això normalment és un símbol que té falta de nitrogen o ferro. Una canvi brusc de pH o de salinitat també pot provocar una caiguda al fons, per exemple una pluja forta que dupliqui els volum de l'aigua. Una temperatura massa baixa té el mateix efecte. L'espirulina del fons del recinte corre el perill de morir i transformar-se en grumolls orgànics marrons: per augmentar les possibilitats de supervivència fa falta retornar-la al seu estat de suspensió el més ràpid possible. Així mateix, a la part superior corre el perill de morir per fotòlisis (es tenyeix d'un color marronós o blanquinós) en cas d'il·luminació solar massa forta i prolongada sense una agitació suficient.

L'espirulina en forma d'espiral sovint té la tendència d'aglomerar-se en grumolls verds on la producció d'EPS és abundant; aquest grumolls floten si són molt rics en espirulina, contràriament als grumolls foscos d'EPS. Però si la proporció d'espirulina als grumolls és dèbil en relació als EPS (grumolls de color més fosc) deixen de flotar i poden quedar-se entre l'aigua i interferir a la recol·lecció taponant ràpidament el filtre.

Pot ocórrer que l'espirulina per si sola (incloses les varietats ondulades) floculi en mini-grumolls verds (poc rics en EPS) per l'efecte de partícules minerals petites com el carbonat de calci que s'estigui precipitant, o bé per un excés de certs tipus de ions. Una dilució del medi, en aquest cas, pot ser beneficiosa. Per contrarestar la tendència a formar grumolls, es pot agitar el recinte 2 o 3 vegades per la nit.

Els grumolls foscos pugen a la superficie i floten de forma passatgera en el període on la fotosíntesi està activa, sobretot quan agitem el fons, però normalment torna a caure al fons l'endemà al matí. Podem eliminar-los filtrant-los (amb una xarxa). El que flotin per la nit es deu a la fermentació anaeròbia d'una capa de fangs espesa i amb carència d'oxigen (hipòxia o anòxia), situació que requereix de varis dies per recuperar-se (agitar els fangs amb més frequència, i/o extreure'n la majoria). El procediment recomanat és transferir el contingut a un altre recinte i netejar-lo. Els fangs són una mescla de minerals insolubles (carbonats i/o fosfats), de productes de descomposició d'espirulina mortea (que conté clorofil·la A i sobretot carotenoides, lo que els dóna el color marró característic), de EPS i de microorganismes biodegradables; podem trobar també filaments aparentment incolors, de diàmetre molt més petit que l'espirulina (s'estima en unes 1,5 micres) però de longitud generalment superior. Una observació a gran augment permet diferenciar les cèl·lules d'aquest filaments, de vegades verdes; podria tractar-se per tant d'un cianobacteri denominada Phormidium. Mai hem detectat toxicitats en mostres que continguessin aquest filaments amb el test de l'Artemia. L'aparició d'aquests filament "incolors" succeïx molt ràpida en els aglomerats que contenen residus d'espirulina morta, i també a l'aigua dolça: si col·loquem espirulina en aigua dolça, no sobreviu molt de temps i es descompon en fangs marrons formats de "boles" de filaments incolors molt compactes.

El color del fang del recinte és a vegades més aviat rosat, però generalment és marró, el color del carotè.

També ens trobem frequentment en els fangs cristal·lins en forma d'agulla, de vegades semblants a bigues: es tracta d'una mescla de fosfat de amoni i de magnesi, soluble en un medi àcid; aquests cristalls es troben a la capa flotant d'espirulina i es recullen en ella, però es re-dissoldran amb els àcids de l'estómac. Per impedir la formació d'aquests cristalls, és necessari evitar dosis molt fortes de fosfat de magnesi i/o amoni.

Un mal olor correspon generalment a què les cèl·lules estan en un mal estat o no s'ha recollit suficientment, o que hi ha una fermentació anaeròbia o inclús una addició excessiva d'urea, sucre o orina. Una olor moderada a amoníac, corresponent a 20-30 ppm d'amoníac al medi, no és greu, però ens alerta sobre un possible perill imminent. L'ús de sucre per fer les aportacions de carboni a vegades provoca una olor a fermentació per llevats realment no gaire desagradable. Un cultiu

d'espirulina en bona salut i a temperatura ideal normalment allibera un olor característic i agradable similar al del gerani o al de la rosa.

## 7.11) Contaminació per petits animals

Excepte si el recinte està completament protegit, és inevitable que els insectes, o de vegades altres animals (serps, llangardaixos, granotes, ratolins, cargols), fulles i altres restes vegetals caiguin dins el recinte. Podem retirar-los amb una xarxa, però si els deixem, el qual no es recomana, acabaran per ser "digerits" pel medi de cultiu i serviran d'aliment a l'espirulina.

Per contra, alguns cucs i insectes son capaços de viure al medi de cultiu com a paràsits. Aquest és el cas de les larves de la mosca Ephydra (petita mosca marró que camina sobre l'aigua), les larves de mosquit, el zooplàncton (rotíferes, especialment Brachyonus, cianòfags, i amebes capaces de menjar-se l'espirulina), que s'instal·len i viuen durant un cert temps al recinte: per a fer-los desaparèixer podem augmentar el pH momentàniament a 12 i després mantenir-lo durant una nit, acidificant-lo al matí següent a 10; però aquest xoc de pH també pot matar una part de l'espirulina, que s'haurà de posar "en convalescència", a l'ombra. Aquest xoc de pH no és gaire eficaç contra les amebes. De vegades és suficient amb un augment brusc de la salinitat de 3 g/l para a fer desaparèixer als invasors (especialment les larves). També podem augmentar la temperatura a 40°C, amb pics de 44°C. L'addició d'una dosis fort d'amoníac, per exemple de 100 ppm, mata a les larves i les amebes però també a una part de l'espirulina. Finalment, la millor manera de suprimir les larves és eliminar-les físicament recollint-les amb l'ajuda d'una malla de 300 μm col·locada al través de la corrent del cultiu.

La desaparició de les amebes generalment ocorre de manera natural en uns quants dies de bon temps, per la bona temperatura i el creixement ràpid de l'espirulina; mantenir una concentració d'espirulina no molt elevada i una bona agitació afavoreix la desaparició de les amebes. De fet les amebes semblen cohabitar amb l'espirulina quan aquesta es troba debilitada o en creixement nul. Per exemple, en una mostra de cultiu en bon estat, podem veure aparèixer amebes després de 24 hores d'emmagatzematge al laboratori.

Per la mateixa raó, els rotífers, en principi no poden envair un cultiu en bon estat.

En el cas d'infestació per larves, cianòfags o rotífers, la recollida segueix sent possible, ja que són detinguts pel filtre (ajustar segons sigui necessari la malla del filtre: pels Brachyonus fa falta una malla de 120 μm); podem intentar eliminar al màxim les larves i les nimfes al filtre, o col·locar el recinte sota un vidre estanc o una mosquitera. De vegades la infestació per larves dependrà del lloc i el clima. Pot ser que sigui únicament transitòria; alguns anys no es produirà. Sota un vidre, el risc d'infestació es redueix o s'anul·la (els orificis d'aireig i les portes de l'hivernacle han de tenir teles mosquiteres). Nosaltres a Mialet mai hem tingut problemes amb els rotífers, però elss nostres col·legues els tenen sovint. Cal anotar que els rotífers no són tòxics i no es mengen l'espirulina en bona salut, però es desenvolupen ràpidament en cas de que es "fiqui malalta" i acaben per envair el cultiu donant-li un color roig. Sovint els rotífers estan presents en petit nombre als cultius a cel obert, i contribueixen a eliminar la Chlorella i també l'espirulines filamentosa.

Ripley Fox explica que les amebes presents de vegades en cultius tenen una probabilitat casi nul·la de ser tòxiques. Per precaució, no obstant, es recomana no consumir la biomassa fresca que provingui d'un cultiu amb amebes. Després de l'assecat a 65°C es moren. N.B.:

• Els mosquits mascles que caiguin al recinte de l'espirulina seran esterilitzats per l'alt pH del cultiu (segons un estudi indi) i els recintes constituiran un mètode de control biològic contra

els mosquits; no obstant, aquesta informació es posada en dubte pel fet que els mosquits proliferen al llac Nakuru inclús després de la introducció de tilàpies (peix africà) justament per a combatre'ls, mentre que aquest llac estava ple d'espirulina encara que també hi convivien altres algues.

- El zooplàncton i les larves que hem vist cohabitar amb l'espirulina no eren tòxiques per l'home.
- Les larves de mosquit i els rotífers mengen espirulina filamentosa, però no la de forma tipus Lonar.

# 7.12) Contaminació per filamentoses o algues estranyes

#### A) Filamentoses

L'"espirulina filamentosa" apareix frequentment als cultius. S'assembla als cianobacteris *Oscillatoria*, entre les que no existeixen varietats tòxiques (veure paràgraf B, a continuació), però nosaltres hem verificat que la "filamentosa" que hem tingut fins a dia d'avui són, o bé espirulina *(Arthrospira platensis)* de composició normal, no solament respecte a criteris de dimensió, morfologia, color, etc., sinó també amb el seu contingut àcid gamma-linoleic (molt superior a de l'*Oscillatoria*) i en àcid alfa-linoleic (present a la majoria de cianobacteri i absent en *Arthrospira*) sinó també mitjançant un estudi de "impremta genètica" dut a terme per la Universitat de Ginebra (veure bibliografia: Manen) descarregable a <a href="http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/52/3/861">http://ijs.sgmjournals.org/cgi/reprint/52/3/861</a> (article en anglès).

L'espirulina filamentosa flota menys, o menys ràpid, que les de forma en espiral. Podem intentar contrarestar la seua proliferació no recollint la capa flotant, sinó mantenint el cultiu homogeni i gestionant el cultiu de tal forma per reduir la taxa de creixement de les filamentoses. Una bona agitació evita la fotòlisis de les espirals, que són les que més floten i per tant les més exposades al sol i permet reduir la proliferació de les filamentoses. Si hi ha poques filamentoses, la capa flotant pot contindre-les totes, i per tant podrem recollir-la. En cas d'una infestació avançada podem intentar reduir l'agitació i ressembrar massivament amb espirulina en forma d'espiral flotants.

Ja que les espirals tenen una tendència notable a aglomerar-se en grumolls en certes condicions, (amb un pH baix, a una temperatura baixa, en absència d'amoni), podríem témer que la formació de grumolls augmenti el percentatge de filamentoses: l'experiència ens ha demostrat, després d'una gran producció de grumolls l'octubre de 1999, que aquest no era el cas.

Les filamentoses són genèticament espirulina, però tenen l'inconvenient de que sovint són molt difícils de recollir. El problema no és actual, ja que fa gairebé 40 anys Félix Busson va lluitar-hi:

A la trobada a Florència sobre l'espirulina, el 1980, Busson digué: "les formes rectes apareixen espontàniament dins els cultius estèril d'espirulina. Nosaltres vam separar les formes dretes provinent d'ambdues soques Spirulina platensis i Spirulina màxima. Després d'onze anys ella continua a reproduir-se de forma recta."

El número de novembre del 2002 de la revista "Petites notícies de l'espirulina" (Petites nouvelles de l'espiruline) deia:

L'espirulina filamentosa, vençuda?

- Un missatge de Jean-Denis N'Gobo, de Bangui, el 4/11/02 ens donava una molt bona notícia: "Ja està, ja no tenim més que espirals als nostres tres recintes".
- Una trucada de Pierre Ancel el 8/11/02 ens anunciava que a Koudougou (Burkina Faso) l'espirulina en forma espiralada del tipus Lonar ocupa el 100% del recinte.
- Es diu que a Madurai (Índia) les filamentoses han desaparegut des de l'any 2001 i a Mialet des del 2000.

Però encara hi ha llocs sofrin les filamentoses, i seguim buscant el remei que permeti controlar-les per complet.

No totes les filamentoses interfereixen amb el cultiu: estan les "llargues" que no impedeixen la recollida i les endèmiques, no virulentes, que cohabiten amb la Paracas sense envair-la. Les que ens preocupen són les curtes virulentes, és a dir, aquelles en que la velocitat de creixement és molt superior a les espirades.

L'única mesura coneguda és una prevenció rigorosa: buidar i esterilitzar el dipòsit infectat i recomençar amb una soca garantida sense filamentoses, com amb cèl·lules que vinguin de l'Institut Pasteur o de Jacques Falquet a Ginebra, (quan proveïa soques).

Però, perquè a la natura generalment no trobem filamentoses? (unes poques al dihé del Txad). Una explicació possible: les filamentoses no floten, o floten menys, cauen al fons del llac i moren per falta de llum i oxigen. Una altra possible explicació: les larves d'insectes o de rotífers s'alimenten preferentment de filamentoses. A Koudougou (Burkina Faso) i a Pahou (Benin), entre altres, s'ha constat una desaparició de les filamentoses paral·lela a una proliferació de les larves, i a Maduraï (Índia) a la vegada d'una proliferació de rotífers.

Si aquesta hipòtesis és verdadera, serà un argument per no col·locar els recintes sota un vidre, ja que allí no hi ha larves o n'hi ha menys. Per una altra part, els vidres no semblen afavorir les filamentoses, ja que molts recintes sota el vidre funcionen any rere any sense ser envaïts per aquestes (també n'hi ha, clar, que estan plens). Una agitació massa dèbil exposa més a les espirades a la fotòlisi, degut a la seua flotació més forta, i per tant, afavoreix indirectament les filamentoses: dit d'una altra forma, a les filamentoses els hi és suficient una agitació una mica més baixa que a les espirades; però una agitació no molt eficaç no permetrà que dominin les filamentoses virulentes, si estan presents al cultiu.

En quant a les ocasionals "avantatges" de les filamentoses: és cert que algunes tenen el potencial de créixer més ràpid que les espirades, però això no es tradueix necessàriament amb una productivitat més elevada: la productivitat és lògicament la mateixa, ja que el carboni és el factor limitant en l'alimentació (quan el carboni prové únicament de l'atmosfera). Pel contrari, les filamentoses virulentes, és a dir, capaces d'envair completament un cultiu, permeten una producció més important, de fet, molt important, si les alimentem amb carboni artificial (CO<sub>2</sub>, bicarbonat de sodi sempre que les puguem filtrar).

Aprofito per recordar la desgràcia que ens va passar a la Sociedad Imada (Motril, Espanya) que havia seleccionat laboriosament una soca d'espirulina (filamentosa curta) particularment virulenta, que havia rebut el nom de M1 i molta publicitat de la premsa local. Creixia tan ràpidament que les larves, extremadament abundants, no podien consumir-les totes, de forma que la concentració d'espirulina va créixer. Aquesta varietat no és possible de recol·lectar-la amb els nostres mètodes, i ha hagut de ser abandonada. Aquells qui vàrem conèixer aquest trist succés, esperem que la desaparició de la M1 hagi set total, i ens hem quedat marcats per una fòbia a les filamentoses, un error?, no s'ha de ser sectari: qui sap si algun dia amb un mètode una mica més "hight-tech" es podria recol·lectar correctament les M1. La recol·lecció mecànica amb tambor rotatiu de Robert Nogier (Saint Paulet de Caisson, Gard) és una pas en la bona direcció, encara que insuficient. Els filtres vibratoris, tant en la recol·lecció com pel buidatge són una solució.

Mantenir condicions fàcils de recollida amb petits medis artesanals ens sembla preferible (sembla que un petit productor espanyol continua utilitzat la soca M1, segurament fent-se molt de mal). Per una altra part, la biomassa de les filamentoses és sovint dificil o impossible escórrer l'aigua durant el premsat i ha de ser rentada i escorreguda sense assecat, i aquest assecat sols es pot fer pel mètode "indi" (descrit al capítol d'assecat, estenent una capa fina sobre un film de plàstic). Nosaltres facilitem la filtració i premsat de filamentoses mesclades amb un 20% d'espirades o Paracas; Philippe Calamand, per un altre costat, aplica una capa de Paracas al seu filtre abans de filtrar les filamentoses.

També volem relatar una experiència viscuda durant una operació d'eliminació de Chlorella: la biomassa recollida del recinte contaminat (a pH > 10) es va rentar amb un medi nou (pH=8,2) i es va ressembrar immediatament en aquest medi, però el xoc de pH va ser massa fort i el nou cultiu va morir al dia següent. Mentrestant, alguns filaments van sobreviure al tractament de xoc i el cultiu va tornar a començar, però, i això ho fa interessant, absolutament sense filamentoses. El cultiu d'inici era una Paracas (ondulades) que contenia un 0,5% de filamentoses (no virulentes), aparentment més sensibles al xoc de pH.

En aquest assumpte de les filamentoses s'ha de ser humil i reconèixer que la nostre ignorància segueix sent molt gran!

Es necessari assenyalar un altre inconvenient de les filamentoses: la seua biomassa fresca és difícil de consumir, ja que es presenta com una massa viscosa i plena de fils en lloc d'un "formatge" més fàcil de tallar i estendre.

#### B) Algues estrangeres

A mesura que l'espirulina creix i, sempre que estigui ben alimentada, recollida, agitada, a pH > 9,5 i que tingui un color verd fosc i que el medi sigui purgat regularment, no és normal que una altra alga envaeixi el recinte, almenys no ho hem vist mai. L'aparició d'algues estranyes es pot produir de totes formes, per exemple Chlorella a finals de l'hivern a zones temperades, i no ser vista. Per això és prudent examinar (un o dos cop l'any) una mostra de cultiu al laboratori que tingui un bon microscopi i entrenament en reconèixer el que no és espirulina: pot tractar-se de simples Chlorelles (algues verdes unicel·lulars comestibles) o de Oocystis (chlorelles grans); però també poden ser cianobacteris tòxics com *Oscillatoria agardhii* (semblant a una espirulina però el doble de llarga) *Oscillatoria rubescens* o *Oscillatoria nigrivi-ridis* (semblant a l'espirulina filamentosa però d'un diàmetre i longitud de cèl·lules més gran i un color diferent), *Anabaena flosaquae* (com una espirulina filamentosa però amb incisions a les parets entre les cèl·lules), *Anabaenopsis amoldii* (com una espirulina espirada però amb heterocists, paquets que li permeten fixar el nitrogen) o *Microcystis aeruginosa* (veure Annexe 22 per comparar l'espirulina amb aquestes algues).

Oscillatoria grunowiana articulata tenius, no tòxica i massa petita per quedar-se amb la biomassa premsada, es veu al microscopi de vegades després d'haver tintat una mostra amb tinta xinesa. Si l'alga contaminant és eucariota (cèl·lules amb una nucli que es distingeix bé) es tracta d'una alga verda o marró, les quals generalment no son tòxiques. Un ull entrenat pot diferenciar fàcilment les principals Oscillatoria tòxiques de l'espirulina filamentosa.

Ripley Fox va proposar un test biològic de toxicitat simple: si les larves joves de Artemia no moren després d'estar 6 hores en contacte amb un extracte de cultiu de cianobacteris, aquest no és tòxic. Per tenir larves d'Artemia és suficient amb submergir dos dies els seus ous (cists en termes científics, es venen en revises d'aquariofília i es conserven a la nevera) en aigua salada a 30 g/l a temperatura ambient i sota una llum dèbil durant el dia. Posem al voltant d'un 10% de la mostra d'espirulina que vulguem testar al cultiu de larves d'Artemia, en un recipient transparent com un

"mini-aquari" fabricat amb dos vidres per al microscopi. Es recomana trencar la membrana de les micro-algues, ja que de vegades les toxines es troben sobretot a l'interior (R. Fox ha verificat que les toxines d'Oscillatoria tòxica sortien suficientment inclús sense trencar la membrana, però per més segurament val més trencar-la). El mètode normal per a trencar la membrada és la sonicació, però sinó, podem fer bullir per un moment una suspensió de la micro-alga.

Altres testos biològics del mateix tipus, o inclús més simple i més precisos, s'estan desenvolupant i esperem que siguin posats en marxa.

En el cas de contaminació per Chlorella, una micro-alga verda unicel·lular no tòxica (per exemple després de l'ús d'aigua bruta no filtrada, i/o de recollides massa fortes o per hibernació del recinte), és necessari lliurar-se'n o prendran ràpidament el control si l'espirulina segueix sent recollida, impedint després la seua recol·lecció. Per desfer-se d'elles, teòricament podria intentar jugar amb el fet de que la Chlorella es decantes al fons, o si són privades de la llum, moren. Però aquest mètode segueix sent difícil d'aplicar, ja que l'agitació general del recinte s'ha d'aturar i fer una agitació molt moderada, de la superfície, però suficient per a que l'espirulina no mori per asfíxia o foto-oxidació (l'ombra és pràcticament necessària); no obstant això, la Chlorella tendeix a posar-se en suspensió amb la menor agitació, fent aquest mètode inaplicable a la pràctica.

Per contra, podem jugar fàcilment amb el fet de que la Chlorella és molt petita i passa a través del filtre: per tant és possible recuperar l'espirulina recollint-la i rentant la biomassa amb una solució isotònica (per exemple medi nou), per ressembrar després d'haver netejar el recinte; aquest mètode s'ha mostrat convenient si es fa amb cura, com va ser el cas de Cédric Lelièvre al 2005 i Etienne Boileau al 2006, però s'ha de vigilar de no exposar l'espirulina a un xoc de pH molt gran al fer-ho (una diferència de pH pot ser mortal tal com veurem al següent paràgraf). La eliminació de la Chlorella per el filtratge pot, teòricament, fer-se amb altres mitjans: refiltratge amb un filtre més fi (d'arena, per exemple) esterilització amb UV, calor o mètodes guímics. Cal anotar que un assaig de destrucció de Chlorella a un pH de 13,5 i 21°C (afegint 8 g de sosa per litre) ha donat resultats negatius a curt plaç però evidentment positiu al cap de varis dies, al igual que un assaig a pH de 12. A l'abril de 2007 es va experimentar amb èxit un altre mètode d'eliminació de Chlorella als recintes d'Etienne Boileau a Montpellier: deixem augmentar la concentració d'espirulina amb agitació reduïda fins a 0,8 g/l, lo que va asfixiar la Chlorella que va acabar per desaparèixer en alguns dies. Tractament repetits amb 17 ppm d'amoníac impossibilitaren la proliferació de Chlorella al cultiu d'espirulina de Vonshak (veure Bibliografia, Vonshak 1997, pàgina 91); la mateixa referència indica altres mètodes per prevenir, en la majoria dels casos, la contaminació per Chlorella: treballar amb una alcalinitat elevada (10,2) en un medi net i a alta temperatura. Aquestes mesures no van tenir efecte per a Cédric Lelièvre, però tot i això la filtració fina de l'aigua d'alimentació (aigua de

Per últim els rotífers són capaços d'impedir la invasió d'un cultiu d'espirulina per Chlorelles (veure article de Mitchell i Richmond a sota, 1986):

Ús de rotifer pel manteniment de cultius unicel·lulars de Spirulina

superfície) va ser positiva per prevenir la reaparició de Chlorella.

S. A. Mitchell 1, A. Richmond 2

1Botany Department, UOFS, P.O. Box 339, Bloemfontein 9300, Sur Àfrica 2Microalgal Biotechnology Laboratory, The Institute for Desert Research, Ben Gurion University, Sede Boqer 84990, Israel

#### **Abstract**

Es va utilitzar amb èxit zooplàncton pel control biològic d'algues unicel·lulars contaminades en cultius de biomassa d'espirulina, inclús sota condicions adverses pel creixement d'espirulina (temperatura màxima durant el dia d'hivern d'uns 10°C i concentracions molt baixes de bicarbonat). Brachionus plicatilis (Rotífera) va ser la espècie de zooplàncton utilitzada amb més èxit. Les interrelacions entre l'espirulina, els contaminats unicel·lulars verds, i *B. Plicatilis* es van estudiar en diferents condicions. Es van utilitzar dos espècies contaminades unicel·lulars *Monoraphidium* 

minutum va ser aïllat de cultius locals i *Chlorella vulgaris* obtinguda de cultiu de Spirulina contaminada a Israel. El rotífer *B. Plicatilis* va controlar amb èxit el nombre de la població en ambdues contaminacions, tan quan van ser introduïdes una sols cop, com quan van ser introduïdes amb dosis diàries. El control biològic dels contaminats unicel·lulars permet que l'espirulina sigui cultivada en un medi amb un nivell baix de bicarbonat, reduint per tant el cost del medi augmentant la quantitat de CO<sub>2</sub> que pot ser absorbit lliurement per la atmosfera al pH òptim pel cultiu d'espirulina.

La presència de navícules, diatomees (algues unicel·lulars que contenen silici) lanceolades marrons, és bastant frequent en cultius d'espirulina que continguin els suficients ions silici. L'addició de 50-100 pmm de clorur de calci la combat eficaçment reduint la concentració de silicat soluble (ja que el silicat de calci és insoluble).

Sembla prudent fer el buidatge total o un esterilització del recinte de tant en tant (per exemple cada dos anys) i recomençar el cultiu a partir d'una soca de qualitat garantitzada per evitar riscos d'una eventual degradació genètica de la soca cultivada. Tot i això, aquesta recomanació segueix sent teòrica, i probablement inútil: la gran similitud genètica de les Arthrospira fa pensar que un pot fiarse de simples criteris tècnics (filtratge, resistència, aspecte, etc) per estimar si es necessita o no renovar la soca (utilitzant les paraules de Jacques Falquet, Antenna Technologies el 25/02/2003).

## 7.13) Contaminació por microorganismes

Donat el pH elevat (>9,5) del medi de cultiu, la majoria dels microbis perillosos per l'home estan normalment inactius als dos dies. Atenció als cultiu amb un pH<9,5 (cultiu joves amb bicarbonat de sodi, o una injecció massa forta de CO<sub>2</sub>), que corren el risc de no beneficiar-se d'aquest efecte protector. Per una altra part, s'ha senyalat el risc de que certs microbis patògens introduïts als cultius d'espirulina (sense dubte per alguna espècie de mala observació de les regles d'higiene) poden tornar-se resistents als pHs elevats, risc que pot augmentar si s'utilitza el sucre com a font de carboni; però mai ha estat confirmada. S'ha assenyalat també l'existència de microbis o paràsits africans que podrien ser resistents a pHs elevats: tot i això, no s'ha observat mai cap cas real seguint les regles normals d'higiene.

Por altra banda, els cultius contenen bacteris degradadors adaptats al medi de cultiu que juguen un paper benèfic, junt amb el zooplàncton, per purificar el medi i reciclar els nutrients, ajudant a eliminar l'oxigen i aportant diòxid de carboni. La proliferació d'aquests bacteris beneficiosos exigeix una concentració de ferro suficient (preferentment quelat) per exemple de 0,5 ppm.

Els gèrmens de fongs sempre estan presents als cultius, ja que els fongs apareixen regularment a la superfície si es passa molt de temps sense agitació (com a la superfície de les melmelades artesanes) i els anàlisis bacteriològics normalment detecten de 5 a 500 colònies/g sense que s'hagi imposat cap norma a la major part del país francès.

L'ús de sucre com a font de carboni, així com el fet de no recollir durant molt de temps, provoca un augment al cultiu del número de microorganismes filamentosos aparentment incolors, que interfereixen amb la filtració però que pràcticament no es troben al producte final (N.B. Aquests filaments aparentment incolors semblen venir dels fangs, on es troben en gran nombre).

S'ha de fer un anàlisi bacteriològic de verificació del producte final de tant en tant (un o dos cop a l'any). Degut al risc de contaminació després de la recollida, podria ser necessària una pasteurització del producte final, però s'ha d'evitar sempre que sigui possible.

Atenció: en alguns països, l'aigua que s'utilitza per la neteja, esbandides, etc., podria estar contaminada, això podria ser una font de contaminació pel producte recollit. En aquest cas es recomana l'ús sistemàtic d'aigua de Javel per a totes les neteges, amb una esbandida final d'aigua

amb clor (mínim 1 ppm de clor actiu lliure, veure següent); ja sigui amb una gota d'aigua de Javel (es troba en litres, al 2,8% de clor actiu) amb un litre d'aigua de neteja.

## 7.14) Contaminació química

Els detergents i els sucres no són tòxics a 100 ppm. Un gran excés d'urea o amoníac provoca la mort de l'espirulina, i el medi de cultiu es torna lletós, com una espuma groga o verda i fangs abundants, però en general hi ha suficients supervivents (sinó podem ressembrar) per regenerar espontàniament el cultiu en uns deu dies si tenim la precaució de posar-la a l'ombra.

Després d'una sèrie d'experiències, hem trobat que una dosis de 8 ppm de clor actiu afegit a l'aigua de Javel (hipoclorit de sodi) mata a l'espirulina al seu medi de cultiu amb un pH <9, però que resisteixen a 4 ppm; amb un pH=10,6 han resistit una dosis de 12 ppm (però l'efecte del clor varia segons la demanda de clor al medi). Les dosis algicides generalment recomanades per una aigua a pH neutre són entre 0,5 i 1 mg de clor actiu per litre.

N.B.: l'aigua de Javel comercial concentrada en garrafes té un 11% de clor actiu, l'aigua de Javel ordinària venuda en litres conté 2,8%. S'ha de saber que el poder algicida de l'hipoclorit es molt més fort en un pH baix que en un pH alt. El tiosulfat (Na<sub>2</sub>S2O<sub>3</sub>, pes molecular 158) pot utilitzar-se per neutralitzar el clor actiu: teòricament es necessiten 4,5 g de sulfat per g de clor actiu segons la reacció:

 $2 \text{ Na}_2\text{S2O}_3 + \text{Cl}_2 = 2 \text{ NaCl} + \text{Na}_2\text{S}_4\text{O}_6 \text{ (ditionat)}$ 

El tiosulfat sovint es ven penta-hidratat (pes molecular 248), en aquest cas, fan falta 7 g/g. Es recomana utilitzar un excés de tiosulfat per precaució.

## 7.15) Falta d'oxigen (hipòxia)

Si l'oxigen es pot considerar un verí per l'espirulina quan hi ha una forta sobresaturació durant la fotosíntesi activa, aquest no és el cas en absència de llum, ja que l'espirulina necessita l'oxigen per respirar, a l'igual que altres microorganismes aerobis presents. El contingut d'oxigen del medi de cultiu en equilibri amb l'aire atmosfèric ve donat per la fórmula aproximada següent: mg/l o ppm d'oxigen =  $0.616 + (\text{pressió atmosfèrica expressada en mmHg}) \times (1 - 0.0009 \times \text{altitud en metres}) / 31.64 + T, °C) - 0.035 \times (\text{salinitat en g/l}). Per exemple 8 ppm a 25°C.$ 

Al pic del període de fotosíntesi activa el contingut d'oxigen del medi de cultiu pot sobrepassar llargament la saturació i elevar-se a més de 30 ppm. Però la respiració de l'espirulina consumeix 1,2 g d'oxigen per gram d'espirulina "cremada", fàcilment 3 g d'oxigen m<sup>2</sup>/nit, i altres microorganismes també consumeixen oxigen sobre tot si el medi conté sucre i altres productes biodegradables; així, la taxa d'oxigen del medi cau ràpidament quan s'atura el procés de fotosíntesi, sobre tot si la concentració d'espirulina és elevada. Com ha mostrat Jacques Falquet, es pot arribar fàcilment a l'anòxia amb una presència de 100 ppm de sucre o inclús agitant per la nit. L'oxigen de l'aire es dissol al medi si aquest està per sota de la seua concentració d'equilibri, però aquest efecte és inapreciable si no hi ha agitació. Avaluem l'absorció d'oxigen de l'aire, en g/hora/m<sup>2</sup>, mitjançant la fórmula molt aproximada obtinguda de l'experiència de les piscifactories = 0,3 x (potència d'agitació, W/m<sup>2</sup>) x (concentració d'oxigen en equilibri – concentració actual, ppm) per exemple per un tanc agitat de forma continuada a 1 W/m<sup>2</sup> i que contingui 200 l/m<sup>2</sup> amb 5 ppm d'oxigen: 11 g d'oxigen/m²/nit. Per tant, no és sorprenent que al fons d'un reactor agitat durant la nit li falti oxigen, i que els fangs experimentin una fermentació anaeròbia amb la formació de bombolles de gas insoluble (metà), el que resulta amb fangs verds que pugen a la superfície. Per combatre aquesta situació, podem agitar el dipòsit de fangs amb una escombra i mantenir l'agitació del cultiu durant la nit, però el més eficaç és retirar regularment l'excés de fangs del fons del recinte. Podem fer això transferint el cultiu a un altre recinte o aspirant el fons amb una bomba de sifó. La barreja de fangs i medi de cultiu eliminat pot ser recollida en un recipient per decantar els fangs i reciclar la majoria del medi de cultiu.

L'espirulina no sembla sofrir en cas d'anòxia durant algunes hores per la nit. Amos Richmond va demostrar que la respiració era dèbil en cultius molt concentrats, i també a les capes flotants. Sabem que es pot mantenir un cultiu viu tan sols amb un petit bombolleig per la nit, no permetent més que una respiració mínima. Sabem també que durant els primers temps de l'existència de l'espirulina a la Terra no hi havia encara oxigen a l'atmosfera, i per tant l'espirulina ha passat per aquella època victoriosament: es probable que l'oxigen que produïen durant el dia es quedés diluït al medi de cultiu i els hi ofereix durant la nit les traces suficient com per sobreviure.

#### 7.16) Malalties

Molt rarament, a l'espirulina s'hi presenta una deformació o estan inflades, o tenen un color grogós a una extremitat o al costat dels filaments, que suggereix un esclat de la paret amb vessament de les cèl·lules (espirulina anomenada "estripada"). És possible que això sigui el resultat d'una atac per un virus cianòfag. A la pràctica, les anomalies desapareixen elles soles al cap d'alguns dies de funcionar amb les condicions normals; és molt rar que això provoqui la mort del cultiu.



Fotos d'espirulina "estripada" observada al microscopi, a l'Escola d'Agricultura Don Bosco, a Linares (Xile) 1988.

## 7.17) Metalls pesats

L'espirulina absorbeix molt fàcilment els metalls pesats presents al medi de cultiu. Alguns són tòxics per l'home (mercuri, plom, cadmi) A l'<u>Annex 17</u> es trobaran el màxim de metalls pesats autoritzats a França dins l'espirulina.

# 7.18) Neteja de la bassa

És bo de netejar la bassa aproximadament cada 3 mesos. O abans que el fang del fons sigui suficientment espès per fermentar i provocar les boles flotants. Millor, de fet, eliminar el fang, de tant en tant, per aspiració del fons i decantació en un altre recipient: aquesta pràctica, junt amb l'aireig nocturn, (per agitació) d'un pH moderat (<10,5) i un raspall diari dels costat, dels fons, i dels plecs de la bassa, afavoreix a l'autodepuració del medi. Solament el raspall, sense treure els fangs, és menys eficaç.

El millor mètode de neteja complet (per exemple anual) d'una bassa és transferir provisionalment la majoria part del contingut en una altra bassa veïna, a continuació netejar els fangs del fons i costat, i esbandir-ho. Atenció amb els racons (els plecs del plàstic als angles). Hi ha sovint un dipòsit blanc incrustat, es tracta d'un dipòsit de mineral, que pot ser remogut i rentat amb àcid clorhídric diluït,

que té l'avantatge d'esterilitzar-ho al mateix temps. (és útil sobretot quan es canvia de varietat d'espirulina)

#### 7.19) Purificació del medi de cultiu

Després de 2 a 6 mesos de cultiu (segons el nivell de productivitat i segons la neteja) sense purgar, el medi de cultiu, és perfectament clar a l'inici, esdevé més o menys colorat cap a gran-marró i la velocitat de filtració baixa i el premsa la biomassa esdevé més dificil. La pràctica de purgues regulars o el reemplaç total del medi arregla aquest problema, però pot interferir en l'ambient i costar molt car en productes.

L'experiència ha demostrat que un medi "usat" pet ser parcialment regenerat per simple decantació dins una bassa profunda no agitada, durant un temps variable segon el grau de purificació desitjat. És probable que una par dels EPS es biodegradin durant aquesta operació, però una part es diposita al fons, sota una forma de dipòsit més o menys colorat que pot ser enviat al compost.

És possible d'obtindre així una turbiditat fiable (Secchi negre més de 30cm) per contra, hi queden els productes orgànics dissolts (el test de filtració de 400g continua sent bo si obtenim 330g filtrats en un minut, per exemple.)

Abans de re-utilitzar el medi depurat, es bo d'airejar-lo per suprimir els bacteris anaerobis presents al fons de la bassa de decantació.

Si el medi enviat a la bassa d'aigües residuals conté espirulina, això no té importància: es podrà recuperar la capa flotant. Aquest també potser un mètode per eliminar o reduir el percentatge d'espirulina dreta o de Chlorella.

Però hi ha mètodes millors que la simple decantació: la filtració amb un filtre de sorra (per exemple de piscina o d'irrigació gota a gota.)

I hi ha encara un mètode millor: el medi decantat i/o filtrat amb sorra pot ser subjecte a una oxidació biològica amb injecció d'aire (sense cap inseminació de bacteris especials, els bacteris ambientals naturals són suficients, a condició que el pH sigui moderat, inferior a 10,5 preferentment), seguidament d'una nova decantació o filtració per eliminar els residus ("fangs activats.")

Per aquestes mètodes s'arriba a reduir la carga orgànica (DQO i DBO) i la coloració del medi suficientment depurat perquè el seu reciclatge permeti de no tenir la necessitat de renovar el medi de cultiu; aquesta pràctica és la que es du a terme a la granja d'espirulina BIORIGIN a Equador fa més de deu anys (veure publicació a "Colloque des Embiez 2004.)

S'anotarà una possible depuració química ràpida i simple del medi de cultiu utilitzant per exemple aigua de Javel (al voltant de 5% d'aigua de Javel al 2,6& de clor actiu) que esterilitza i depura totalment el medi de cultiu amb alguns minuts, però necessita la neutralització de l'excedent de clor actiu afegint-hi tiosulfat de sodi (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 5H<sub>2</sub>O) a un raó de 5 g/l abans del reciclatge. Depenent de l'oxidació química per l'aigua de Javel, o el permanganat de potassa, o l'aigua oxigenada dels compostos potencialment perillosos pel consumidor. L'oxidació amb aire ozonificat és molt eficaç i no produeix compostos perillosos, però és necessari disposar d'una ozonificador i després la dissolució de l'ozó dins el medi de cultiu a tractar no és fàcil.

La depuració per oxidació de la carga química redueix el pH del medi de cultiu fins a 10.

# 7.20) Mort sobtada dels cultius

En nombrosos casos les morts més o menys sobtades dels recintes (sobre tot de Paracas) es registren a l'estiu, sense que es sàpigui amb certesa l'origen del mal. La hipòtesi d'un virus cianòfag sempre es contemplada, però no s'ha provat encara. La hipòtesi de la fotòlisis sembla poc provable a l'estiu, o s'hauria d'admetre una extrema fotosensibilitat de la soca. Phillipe Calamand creu que el problema

apareix sovint per una falta d'amoni i recomana com a remei afegir 1 litre d'amoníac al 13% per cada 10 m³ de medi si el problema és esporàdic, amb dosis que es poden triplicar si el cas és greu.

La recerca de causes continua, però a l'estat actual de la investigació ens veiem temptats d'acusar la mala qualitat el medi ambient. L'aigua i l'aire purs semblen necessari per a que l'espirulina funcioni bé; s'ha de fugir del veïns no "eco", les ciutats, les indústries, les carreteres. Es pot fer una correlació entre els problemes de nombrosos cultius d'espirulina situats en zones vitícoles (ralentí del creixement, mort de cultius, ...) i la virulència del míldiu que obliga als viticultors a tractar amb productes energètics.

Un altre cas possible és la invasió del cultiu per un cianobacteri concurrent d'uns filaments fins i rectes que probablement és el Phormidium, no tòxic para als animals però que pot frenar el creixement de l'espirulina i inclús matar-la si la concentració d'aquest creix molt. Aquest cianobacteri neix als fangs (dels quals s'alimenta de forma heterotròfica, és a dir, de matèria orgànica), així s'han d'eliminar els fangs per tal d'eliminar-lo. Una altra suggerència, més fàcil de dur a terme és treballar amb soques mixtes i a concentració elevada d'espirulina, (que va paral·lelament a una reducció de la profunditat del cultiu) així afavorim la dominància d'almenys un dels tipus d'espirulina sobre les algues estrangeres, i les protegirem millor contra la fotòlisis.

Un aclariment: la contaminació d'un cultiu és més probable quant més gran sigui la superfície d'aquest, si està repartit en un sola bassa, o entre varis, cada un amb una varietat diferent. Pot fer falta adoptar algunes bones pràctiques de les grans granges d'espirulina, per exemple:

- Començar una bassa sols a partir d'una soca pura, obtinguda a partir d'un sol filament en un medi estèril i axènic, amb les precaucions draconianes usuals als laboratoris de biologia. Això significa a renunciar a les re-sembres fàcils i instantànies a partir d'un veí complaent.
- No admetre a la granja cap visitant o treballador que no estigui vestit de cap a peus amb roba de protecció adequada i que no hagi passat una dutxa esterilitzant.

# 8) COLLITA

Més val recollir al matí, és en aquest moment en què la proporció d'espirulina en proteïnes és generalment més elevada. N'hi han altres raons: després fa un calor excessiu, cal assecar la collita lo més aviat possible (sobretot en cas d'assecament solar, si no està clar que vagi a fer sol a la tarda). Filtrar a ple sol no és gens aconsellable posat que la biomassa en els bordes del filtre es torna marró ben aviat i embruta la tela de filtració. Quan el cel està tapat no hi ha tanta necessitat de recollir d'hora al matí, i quan fa bon temps sempre es pot ombrejar el filtre. Faci el temps que faci, si operem a l'aire lliure cal cobrir el filtre per evitar que la biomassa recollida es deteriori i s'embruti. Si es pot és millor habilitar un emplaçament de recol·lecció protegit del sol i de la pols, millor dins d'un edifici.

#### 8.1) Filtració

La recol·lecció consisteix en filtrar una part del cultiu en una tela fina (malla de 25 a 50 µm), reciclant lo filtrat dins de la bassa, directament, o a través d'un sistema de purificació (filtre de sorra, decantació, oxidació biològica). El cultiu s'envia al filtre a través d'un tamís de malla de 300 µm destinat a interceptar els estrangers com insectes, larves, fulles, sediments o grumolls d'espirulines. Un tamís de malla més fina pot ser necessari per parar eventuals rotífers (s'escull una obertura de malla que no pari massa espirulina).

La tela de filtració es pot ficar simplement sobre un gran tamís amb unes vores de 10 cm d'alçada o un gran colador, però és preferible una bossa o un tub (veure al final d'aquest capítol). Els marcs de serigrafia (tela molt tensada sobre un marc, com una pell de tambor) també poden servir de filtres, però són massa cars i fràgils sense oferir cap avantatge decisiu. És interessant, però no pas obligatori, que la tela de filtració sigui tensada plana (si es tracta d'una bossa el mateix pes del líquid tensa la tela, sinó aixequem una vora de la tela amb la mà si és possible). Per facilitar el seu desembossament amb una pala de canto recte i també per a recollir la biomassa si se pega. En el cas de filtració en tub no farà falta desembossar.

Podem bombejar el cultiu (bomba que no trenqui l'espirulina! comprovar al microscopi), o bé transvasar-lo amb sifó o deixar que corri per gravetat si el filtre està sota el nivell de la bassa. Per la recol·lecció manual, s'utilitzen cubells amb cantells drets preferentment; de totes formes cal evitar moure massa el fons de la bassa per que no pugin els sediments del fons durant l'extracció. Malgrat que el tamís aturi els sediments més visibles, gairebé sempre es colen partícules fines dins de la collita: es dipositen dins de la tela, sobretot on arriba el cultiu que se filtra (si n'hi ha molts a la tela, sobretot de malla fina, s'obstruirà prou ràpidament agafant un color marró i llavors potser caldrà netejar-la amb un sortidor durant la collita). Es facilita la filtració, quan una capa de biomassa s'ha format a la tela, rascant la tela per desenganxar-la: per tal fi s'utilitza una pala de plàstic i quan la filtració es lenta més val treure el contingut de la pala i escórrer-ho a part.

Per les produccions ja una mica importants, millor utilitzar una bomba amb cabal fort, tipus bomba d'aigua (al menys amb la soca tipus ondulada o "Paracas" poc sensible al trencament amb bomba), col·locant el tamís a l'aspiració o a la compressió, enviant un raig tangencial sobre la tela horitzontal, lo qual ho desenganxa automàticament aquesta tela.

Quan s'atura l'enviament de cultiu sobre el filtre (procurar no abaixar la concentració d'espirulina per sota de 0,4 g/litre), deixar escórrer, després recol·lectar la pasta verda obtinguda, anomenada

"biomassa". La biomassa d'espirulina que conté menys de 75% d'espirulina dreta i que prové d'un cultiu en bon estat, amb pH i proporció en amoni no massa elevats, se filtra fàcilment i s'eixuga fàcilment premsant. A vegades la biomassa eixugada sobre el filtre s'ajunta fàcilment fent-la rodar sobre si mateixa per a formar una bola (com per fer una bola de neu) o un cilindre; aquesta biomassa no es pega al plàstic. D'altres tipus de biomasses no fan bola i es peguen al plàstic però s'eixuguen fàcilment. Al contrari, les biomasses massa riques en dretes, o que provenen d'un cultiu "vell" o "cansat" per massa sol o un creixement massa ràpid, o massa ric en matèries orgàniques dissoltes (sucres inclosos) donen una "crema" enganxosa que s'ha de recollir amb cullerot o amb pala de plàstic i que en el pitjor dels casos no es pot eixugar premsant.



Foto: una "bola" bonica (biomassa rica en espirulina en espiral tipus Lonar):

També es pot acabar d'eixugar la biomassa en una bossa penjada. La biomassa eixugada conté del 8 al 12% de matèria seca per un medi de cultiu de salinitat habitual.

Tal com s'ha descrit al capítol 7.9 (EPS), els sediments d'espirulina eventualment detinguts en el tamís se poden recuperar.

Una tela de filtre de mono filaments poliamida (Niló) o polièster (Tergal) és preferible a una tela de cotó per que facilita el desenganxament de la biomassa recollida i es renta millor després. Les teles

de monofilaments anomenades "de tipus industrial" són preferibles, però es pot fer amb roba de vestir de niló, tergal o seda escollits amb cura (i molt més econòmics). Quan més temps exposada al sol, menys durarà una tela de filtració de tela sintètica. Les teles acaben foradant-se o esquinçant-se. Es possible utilitzar una tela de cotó (llençol) amb la condició d'escollir-la bé i que la biomassa sigui de "bona" qualitat (no enganxosa) sinó passa a través de la tela de cotó.

No dubtar a rentar les teles amb la rentadora de tant en tant per a desembossar els porus. També pot estar bé planxar les teles sintètiques, amb planxa no massa calenta, per eliminar els plecs que se formen a la llarga i dificulten la filtració. No abusar del lleixiu que envelleix els teixits més ràpidament.

La collita manual de la capa flotant (quan es forma) amb un cubell de cantells drets és temptadora de recollir ja que permet l'obtenció d'un concentrat d'espirulina d'aproximadament 3–6 g/l, llavors (en vist al pes en sec) amb aproximadament deu vegades menys dels cossos que obturen la filtració. Si disposem de diverses basses, és millor col·locar el filtre en un bassa diferent de la d'on estem recollint la capa flotant, per tal de no pertorbar-la amb el filtrat. Posat que l'espirulina de fora espiral tipus Lonar flota més ràpidament que les ondulades i les rectes, només es pot recollir la capa flotant amb un cultiu 100% en espiral o de flotació total, a no ser així el cultiu s'enriquiria d'espirulina no flotant (dretes per exemple) que acabarien imposant-se: controlar l'evolució del % de les diferents formes – sobretot de les rectes – en el cultiu, al llarg del temps.

Pot passar que fins i tot les ondulades i les rectes flotin completament (això passa sobretot a l'obscuritat quan hi ha poc oxigen, per exemple en un recipient tancat o amb molt poca aeració, amb aproximadament 1 ppm d'oxigen dissolt). Segurament seria interessant utilitzar el dispositiu següent per recollir l'espirulina flotant al 100% (però no ho hem provat): transferir el cultiu dins d'una bassa fonda on se produiria una flotació total, tot seguit injectar aigua en el fons per recuperar la capa flotant per desbordament.

Si la flotació no és total (es veu segons l'aspecte del medi sota la capa flotant), no s'hauria de recollir la capa flotant sola; abans de recollir s'hauria d'homogeneïtzar el cultiu (només deixar els sediments decantar 5 minuts després d'homogeneïtzar), i recollir, preferentment amb la bomba. Per tal de reduir la concentració de dretes o impedir que creixin, se pot fer la collita amb bomba a prop del fons, on hi ha la més gran concentració de dretes.

Hi ha un cas on se pot recollir la capa flotant sense preocupació: en els cultius d'espirulina ondulada (Paracas) tenen tendència a transformar-se en espirals (Lonar) mentre que preferim guardar un màxim d'ondulades. També existeix el cas on les dretes serien flotants (constatat l'any 2011)!



Fotos: Filtració en bassa de 6m² a Mialet, 1998:



Filtració a la Cooperativa Agro-Piscicola de N'dress, Bangui (RCA), 1995:

Un encongiment de la talla de l'espirulina pot estar provocat per una velocitat de creixement molt ràpida o una salinitat o un pH massa elevats o massa lluminositat, o provenir de la soca (en l'espirulina en espiral tipus Lonar les espires poden tornar-se tan juntes que es toquen). En aquest cas, utilitzar una tela de malla fina (de 25 a 35 microns), sinó hi hauran fugides importants d'espirulina a través de la tela sobretot durant els desembossaments, d'aquí un mal rendiment de la filtració i una selecció que acaba enriquint la bassa en una espirulina cada vegada més petita. Una tela de malla fina convé en tots els casos, i llavors és recomanable, però val el doble; es necessària en el cas de soca 100% en espiral en ple estiu. Un cert percentatge de dretes o d'ondulades facilita la filtració i pot evitar la necessitat de malla molt fina.

Pot sortir a compte refiltrar un filtrat que conté massa espirulines petites o trossos d'espirulines a través de un filtre de malla molt fina (5  $\mu$  però encara millor  $1\mu$ , o un filtre de sorra), això per evitar que s'acumulin dins del cultiu. Aquesta precaució s'aplica tan a les varietats en espiral com a les dretes.

Per una filtració bastant fàcil, inclòs amb les dretes, va bé tenir al menys un quart de formes en espiral (o ondulades), millor grans. Al 10% en espiral i pH 11 o bé al 4% i pH 10, la filtració encara és possible, però dificultosa. Se pot apreciar la filtrabilitat fent un test simple descrit a l'Annex

A6.1. Si totes les espirulines són rectes, l'obturació és tan ràpida que la filtració es pot considerar impossible. Si la biomassa es torna habitualment infiltrable, no dubtar en canviar de soca.

La velocitat de filtració per gravetat varia segons el tipus de filtre, la concentració del cultiu, i els moviments impresos a la tela o a la biomassa per a desenganxar. Una velocitat de filtració considerada bona proporciona uns 300 g (d'espirulina seca)/hora/m² de superficie filtrant.

Per a accelerar la filtració es pot utilitzar el vuit produït per un aspirador domèstic (veure filtració) o per la pressió.

Les vibracions impreses al filtre acceleren la filtració, lo que s'explica fàcilment per l'efecte del desembossament, però també per les propietats reològiques dels EPS dissolts dins del medi de cultiu (la viscositat decreix quan la velocitat del moviment augmenta).

La filtració sota pressió es fa en tubs confeccionats en tela de filtració, de diàmetre de 5 a 6 cm, alimentats per gravetat o per bomba i tancats per una pinça o un nus. Aquests tubs es poden col·locar horitzontalment en la bassa mateixa, però és preferible suspendre'ls verticalment per sota de la bassa o en la sala de recol·lecció. Una rampa de diversos tubs d'un metre de llargada és molt pràctica.

El tamís es col·loca més amunt de l'aspiració de la bomba. És important que la pressió dins del tub no superi 1 m de columna d'aigua, si és així, la malla de la tela corre el risc de fer-se més gran sota l'excés de pressió i el rendiment de filtració en patiria les conseqüències.

L'elecció entre filtres plans, sacs o tubs es una qüestió de gustos, però si el lloc de filtració no està resguardat de les brutícies (pols, insectes) el tub es millor, posat que protegeix la biomassa.

# 8.2) Rentat i escorreguda/premsada

Alguns productors prefereixen neutralitzar l'aigua amb aigua acidificada i/o rentar amb aigua dolça la seva biomassa abans d'eixugar-la i d'assecar-la, amb el perill de perdre'n una part per esclatament de les cèl·lules.

Si bé alguna varietat d'espirulina suporta el rentat amb aigua dolça, altres es descoloren o esclaten amb el seu contacte i només es poden rentar amb aigua salada o amb medi de cultiu nou amb la mateixa salinitat (o més exactament amb la mateixa força iònica) que la bassa recollida. De fet l'espirulina posada en contacte amb un medi de salinitat diferent del seu medi d'origen reacciona quasi instantàniament absorbint o perdent aigua per ficar-se en equilibri osmòtic amb el medi, lo qual fa esclatar les seves parets. Les ondulades resisteixen millor l'esclatament que les espiral (Lonar).

El rentatge també pot causar contaminacions microbianes: d'una banda si l'aigua utilitzada no és pura, i de l'altra perquè la baixada de pH torna la biomassa més fermentescible durant el seu emmagatzematge o el seu assecament.

En la granja de Nayalgué (Burkina Faso), des de que el rentatge sistemàtic amb aigua salada al 5 g/l es va adoptar, es va observar una clara millora de la qualitat organolèptica del producte assecat.

Però en general, es recomana rentar la biomassa tan sols quan s'ha de recollir un cultiu brut i amb mal olor, o massa ric en nitrats, o si l'escorreguda és impossible, o bé per produir biomassa per a

règims sense sal de consum fresc. També cal mencionar que l'espirulina rentada amb aigua dolça té un sabor molt insípid.

No cal neutralitzar ni rentar una biomassa que prové d'un cultiu en bon estat , només cal escórrer-la. Tot i així, cal assenyalar que pot ser necessari excepcionalment esbandir almenys parcialment la biomassa per a reduir la seva proporció en nitrats (els nitrats poden venir o bé del nitrat introduït com a aliment o bé de l'oxidació de l'amoni en excedent); normalment no és necessari encara que la proporció en ions nitrat del medi sigui de 1200 ppm tal com en el medi Zarrouk nou.

L'escorreguda es pot fer amb una eixugadora o un filtre buit (tromba d'aigua o bomba de buit), però de manera més senzilla per pressió de la següent manera: la biomassa escorreguda es fica dins d'una tela del mateix tipus que la que s'utilitza per la filtració, doblegada a l'exterior per una tela de cotó resistent – les dues teles doblegades sota la biomassa – i es premsa entre dues estores o taules amb ranures: la major part de l'aigua lliure s'exprimeix per la pressió (0,2 kg/cm² és suficient però es pot pujar fins a 1 kg/cm²). La premsa pot ser només una pila de pes, però una premsa amb cargol superior és pràctica i més néta, sobretot si és d'acer inoxidable, com la representada en la foto següent:



Foto: premsat de biomassa amb l'ajuda d'una premsa per suc de fruita, Mialet, 1998

També es pot utilitzar un gat de cotxe per fer pressió, o una premsa de formatge amb pes i palanca. Augmentant la pressió lentament i aturant-la a temps (abans o de seguida que el suc comença a ser una mica verd), reduïm a quasi res les pèrdues d'espirulina a través de la tela; en el cas de biomassa de bona qualitat i rica en espirulina en forma d'espiral, obtenim resultats molt bonics (biomassa premsada de consistència ben ferma) sense prendre massa precaucions, però tota la biomassa acabaria passant a través de la tela si la pressió fos augmentada exageradament; en el cas de biomasses més "fràgils" o massa riques en dretes, el suc verd es cola més fàcilment, la biomassa

premsada és tova i enganxosa i, si premsem massa l'espirulina, correm el risc de convertir-ho en una pasta massa tova per poder ser extrudida després. Inclòs una biomassa d'excel·lent qualitat pot donar una biomassa premsada tova si la pressió ha sigut massa forta o brutal: si utilitzem un gat de cotxe aquest perill és real i cal anar amb molt de compte (un indicador dinamomètric seria útil). Cal observar el dèbit d'escorriment del suc de premsa per guiar-se.

L'escorreguda/premsa s'ha de fer sense trigar i sobretot cal evitar que la biomassa pateixi calor durant el procés.

No s'ha de premsar massa biomassa a la vegada, encara que no sigui "fràgil": no es pot carregar més de 8 cm de biomassa per capa (però es poden superposar diverses capes separades lo qual permet el lliure escorriment del líquid). Sota la capa inferior, ficar diverses intercalacions per facilitar l'escorriment del suc. La premsa dura al menys 15 minuts posat que el líquid necessita temps per a passar a través dels intersticis molt fins o els capil·lars entre l'espirulina comprimida.

És preferible no reciclar el suc de premsa dins de la bassa, sobretot si es tèrbol (però si disposem d'un sistema de depuració el podem reciclar amb la depuració). La premsa de sediments verds sempre dóna un suc "lletós". Durant la premsa una part dels exopolisacàrids que recobren la part externa de l'espirulina se desenganxa i passa al suc de premsa, encara que aquest no sigui ni tèrbol ni colorat (això se constata fàcilment practicant el test de filtració normalitzat en el medi de cultiu i en el suc de premsa, aquest últim dona generalment un resultat menys bo).

Una espirulina pobre en dretes (menys de 50%), que prové d'un cultiu jove, i convenientment escorregut, té una consistència molt firma, no enganxosa, i se talla de forma neta amb el ganivet, i el seu pH es de 7 a 9 (segons grau de premsa; de fet 9 sembla preferible per l'assecament i la conservació, llavors millor no premsar a fons). L'espirulina en forma d'espiral escorreguda conté habitualment al voltant del 20% de sec (més per les ondulades i encara més per les dretes) si prové d'un cultiu de salinitat normal (10-13 g/l) i si no s'ha rentat o si el rentat s'ha fet amb aigua de la mateixa salinitat (o més exactament de la mateixa "força iònica") que el medi de cultiu.

Un medi tipus Zarrouk o un aigua de rentar de salinitat 20 g/l dóna un % de sec augmentat de 5 punts, un aigua salada al 30 g/l dona un % de sec augmentat de 10 punts (i un sabor mes salat), en canvi el rentat amb aigua dolça donarà sovint un % de sec minorat de 5 punts (i de sabor "insípid"). Els medis de cultiu a base de cendres o de bicarbonat de potassi donen, a salinitat igual (però força iònica inferior posat que el pes atòmic del potassi és superior al del sodi), un grau en sec inferior. De l'espirulina ondulada s'obté una biomassa premsada més rica en matèria seca (entorn de 2,5 punts per damunt de les espirals tipus Lonar); però els seus % de sec atenen un màxim del 33% a partir d'una salinitat de 44 g/l (en NaCl).

Cal distingir sis factors independents regint el % de sec d'un producte premsat: la soca, la forma dels filaments al si de una mateixa soca, la salinitat del medi de cultiu, la quantitat de biomassa escorreguda en una vegada, la pressió aplicada (o el vit, o la força centrifuga) i la durada de la premsa.

Si la biomassa es "fràgil" o molt rica en dretes, no premsar més de 2 cm d'espessor inicial i només aplicar una pressió (o un vuit o una força centrífuga) moderada i progressiva i deixar-la actuar més temps (per exemple 30 minuts): això és generalment més efectiu i permet obtenir una biomassa extrudible.

L'avantatge de l'escorreguda per vuit o per eixugadora és que permet el tractament de biomasses escorregudes poc concentrades, per exemple a 7% de matèria seca, quasi líquids, mentre que la premsa és difícil fins i tot impossible de realitzar en aquest cas.

En alguns casos, sobretot quan hi ha de 30 a 100% de dretes, la biomassa no es deixa eixugar en una biomassa extrudible (els espaguetis, encara que aconseguim formar-los, "es desfan" a l'assecar), però es pot rentar, llavors estendre amb espàtula en capa fina (1 mm) sobre un film de polietilè estirat horitzontalment per assecament ràpid al sol o sobre una safata d'estufa amb aeració lateral. Aquest mètode s'ha d'utilitzar amb cura, sobretot si el rentat es fa amb aigua dolça: l'assecament ha de ser molt ràpid perquè la biomassa rentada amb aigua dolça fermenta ràpidament i és recomanable fer anàlisis bacteriològics més frequents del producte assecat obtingut així. L'èxit d'aquest tipus d'assecament depèn molt de l'espessor de la capa de biomassa estesa: si la repartició no està ben feta, les parts més espesses assecaran malament, agafaran mala olor, i no serviran per l'alimentació humana. Aquest mètode d'assecat, que anomeno "mètode indi" (perquè s'ha practicat molt en l'estat de Tamil Nadu a la India del Sur), també es pot aplicar a la biomassa que s'ha deixat premsar correctament però que són massa toves per ser extrudides (en aquest cas, no es renta, però eventualment es pot realitzar una petita re-dilució per a facilitar l'escampada en capa fina). Aquest tipus d'assecament dóna escates o flocs d'espirulines de molt bon aspecte, les preferides d'alguns consumidors, però de densitat aparent molt feble. Presenta l'inconvenient de que el suport d'assecament (film plàstic) és bastant difícil de netejar quan ja no és nou, mentre que les mosquiteres o reixes no necessiten neteja o es renten instantàniament amb sortidor. Finalment els flocs obtinguts amb aquest mètode tenen la mala costum de carregar-se elèctricament, així com el film de plàstic, i llavors s'atrauen mutualment.

Cal assenyalar que una biomassa "tova", pràcticament impossible d'extrudir, és generalment bona per a consumir-se fresca.

La biomassa no eixugada o rentada amb aigua, o no suficientment, embruneix ràpidament al sol.

La biomassa escorreguda o premsada s'ha de refredar el més aviat possible perquè no es faci malbé. Encara que s'hagi d'assecar, és preferible ficar-la a la nevera fins a l'extrusió, sinó poden sortir males olors durant l'extrusió. Si s'ha de consumir fresca, es millor refredar-la al voltant de 0°C el més aviat possible si la volem conservar prou temps (fins a 15 dies per exemple, lo qual és possible al menys a l'hivern a França).

Al 2009 vam constatar que una biomassa conservada a 2 - 3º durant un o dos dies es premsa més fàcilment, que una biomassa premsada en estoc a aquesta temperatura durant el mateix temps s'extrudia millor.

# 8.3 Rentat de les eines (veure també higiene)

Més val esbaldir el més aviat possible, o al menys ficar en remull, les eines, teles, recipients, instruments que hagin estat en contacte amb l'espirulina; sinó, si l'espirulina s'asseca abans de rentar, es torna molt dificil netejar-la i pot conduir a un consum d'aigua de rentar exagerat. Les teles de filtració i de premsa s'han de rentar i assecar després de l'ús per mantenir la seva eficàcia i evitar que agafin olors; amb compte: per a que durin més; no exposar-les massa al sol. Un rentat de les teles de filtració i de premsa a la rentadora amb detergents es pràctic i recomanable al menys de tant en tant.

# 9) ASSECAT

L'assecat és l'únic mètode segur de conservar i distribuir l'espirulina sense que s'interrompi la cadena de fred.

El procés industrial clàssic per a l'assecat és l'« atomització» (spray-drying), en el qual se l'exposa a un corrent de gas de combustió a temperatures molt altes durant un espai de temps molt curt. Per a això, els filaments han de fer-se puré prèviament per a trencar la membrana: de fet, el que s'asseca és el suc d'espirulina processat. Tret que el gas d'assecat sigui molt pobre en oxigen, la tècnica de spray-drying comporta un risc important d'alterar el producte.

En la producció artesanal, en canvi, s'assequen els filaments d'espirulina sencers: el temps d'assecat és més llarg, però l'interior de les cèl·lules no es sotmet al contacte directe dels gasos calents.

Si l'espirulina premsada no pot ser assecada immediatament ha de ser conservada en un recipient tancat dins del frigorífic a baixa temperatura i durant poc temps (en cas contrari, desprendrà una olor desagradable durant l'extrusió). Cal anar amb compte que no es congeli i evitar la caiguda de gotes d'aigua condensada sobre la biomassa durant l'emmagatzematge. En una càmera frigorífica a 1°C la biomassa pot conservar-se fins a una setmana. La biomassa rentada no pot conservar-se encara que es posi en el frigorífic (tret que s'hagi rentat amb aigua salada isotònica).

#### 9.1) Extrusió

L'assecat ha de ser suficientment ràpid perquè el producte s'assequi sense fermentar. La biomassa producte del premsat es reparteix primer per extrusió en "espaguetis" sobre una safata formada per un marc proveït d'una mosquitera en nylon o, millor encara, en acer inoxidable (malla de 1mm) o sobre una reixeta de plàstic (amb una malla d'uns 5 mm). Si la biomassa és massa fluïda, s'estén en una fina capa sobre un film de polietilè (mètode "indi"). A continuació la biomassa s'asseca al sol o, preferentment, sota un corrent d'aire de poca humitat relativa i forta capacitat d'absorció d'aigua (assecador solar indirecte, o elèctric, o a gas, o deshumidificador), fins que estigui completament seca, se separi fàcilment del seu suport, i es trituri bé.

L'extrusió en espaguetis pot fer-se amb ajuda d'una màniga de pastisser o amb un instrument de cuina molt usual a Índia ("idiyapam maker" en Tamil Nadu) i en l'Orient Llunyà (fabricada amb una premsa de xurros amb forats petits i amb un pistó, o utilitzant una pistola de cola de silicona professional tipus Sika modificada (tap PVC de 50mm amb forats de 2mm), etc. Esculli un model que no tingui peces d'alumini en contacte amb la biomassa. Per a produccions un poc més importants, seria interessant utilitzar un "polsador d'acer inoxidable" (un aparell que s'utilitza a les xarcuteries) accionat per una manovella amb un engranatge provis de una filera d'acer inoxidable o plexiglass. Al deixar els espaguetis en el suport (plat d'assecat) s'evita formar grans acumulacions de biomassa que trigarien en assecar-se. Si es desitgen obtenir espaguetis ben rectes, que l'espessor del tap en el qual es practiquen els forats sigui el triple del diàmetre d'aquests (utilitzar una taladradora de columna). En cas d'utilitzar un pistolet SIKA de 300ml, ens hem adonat que és necessari obstruir l'obertura del pistó amb un poc de plàstic autoadhesiu per a evitar que surti massa biomassa del pistó.



Extrusió de biomassa comprimida amb una pistola de silicona Sika (professional, tipus manual "de butxaca) sobre un plat d'assecat elèctric Stoeckli, Mialet, 1998

## 9.2) Assecat

Es pot assecar a l'ombra simplement exposant-la a un corrent d'aire sota una mosquitera (és suficient que la temperatura de l'aire sigui superior al seu punt de rosada); és el mateix principi que l'assecat de la bugada en filferros o de la vaixella quan s'escura en el seu suport: ha estat aquest el sistema que hem utilitzat, en aquest cas amb una campana de laboratori que posseeix un ventilador potent i un filtre de  $0.2~\mu$  (per a aturar els bacteris), sense necessitat d'escalfar-lo. No obstant això, la qualitat final en aigua del producte pot decebre: aquesta depèn, essencialment, de la temperatura i humitat de l'aire, del dèbit de ventilació i de la durada de l'assecat. Generalment, cal acabar la deshidratació en un assecador d'aire calent o amb un deshumidificador.

Hem pogut assecar fàcilment l'espirulina en un armari metàl·lic proveït d'un deshumidificador i d'un ventilador que expulsa l'aire a través dels plats d'assecat. El deshumidificador ha de ser capaç de baixar la humitat de l'aire al 30%. Aquest dispositiu, que podríem anomenar "assecador termodinàmic", permet desempallegar-se de la humitat de l'aire i de la pols per complet. Fins i tot permet, si així es desitja, reemplaçar l'aire per un gas neutre o empobrit en oxigen per a reduir l'oxidació de l'espirulina que està en procés d'assecat (per a preservar el beta-carotè). L'únic problema és que cal refredar l'armari per evitar que la temperatura de l'interior depassi els 45°C. En un clima calorós i humit això pot obligar a recórrer a un climatitzador, tret que s'assequi de nit. Amb una potència de 350 Watt (fora del climatitzador) s'obtenen de 40 a 50g d'espirulina seca.

L'assecat a l'aire lliure i al sol és el més ràpid i menys costós, però no està exempt d'inconvenients: el producte s'exposa a la pols i als animals (preferentment, protegit amb una mosquitera) i té el risc d'amoratar-se a causa de la destrucció de la clorofil·la causada per la radiació ultraviolada; després de ser mòlt aquest color morat ja no s'aprecia, però el gust sí queda alterat. Aquest tipus d'assecat,

que ha estat utilitzat durant molt de temps a Madurai (Índia) funciona bé si es reuneixen les condicions apropiades perquè l'assecat sigui ràpid; Pot ser que aquesta alteració del gust sigui imperceptible si l'assecat és molt ràpid o si la llum solar és pobra en radiació ultraviolada.

S'adjunten plans d'assecadors solars més elaborats en l'Annex 27. Un assecador solar millorat ha de posseir una part en la qual l'aire s'escalfi que estigui separada de la zona on estigui l'espirulina, protegit de la llum, la pluja i els insectes; l'aire ha de circular amb un bon dèbit, provocat preferentment per un ventilador. El termosifó (efecte de xemeneia) només és convenient si hi ha un mica d'espaguetis damunt dels plats. La influència de la ventilació en l'assecat posseeix una importància cabdal. Si hi ha un fort dèbit d'aire es poden apilar fins a 3 cm d'espaguetis damunt dels plats. Si s'utilitza un ventilador de motor axial per a insuflar aire a través dels plats col·locats a poca distància, cal tenir molt en compte que el dèbit és sovint molt petit prop del centre del ventilador: seria interessant interposar un plat intercalat buit que servís de repartidor del flux d'aire.

Si s'escalfa l'aire per a baixar el seu grau d'humitat relativa, la temperatura ha de limitar-se a 80°C. De fet, freqüentment s'asseca a temperatures més baixes (generalment 65°C, o fins i tot 40°C) amb bons resultats, encara que si es tem que la qualitat bacteriològica del producte es deteriori és possible augmentar-la fins a 80°C per a "pasteuritzar-la" sense que, pel que sembla, la seva proporció en constituents sensibles com l'àcid gamma-linoleic o el beta-carotè. disminueixi sensiblement.

El temps d'assecat no només varia segons l'espessor de la biomassa fresca en cada plat, sinó també segons el nombre de plats superposats, el % de sec a la biomassa, la varietat (les que tenen forma d'espiral assequen un poc més ràpid), la temperatura i la humitat de l'aire i, per descomptat, el dèbit d'aire: en la pràctica, en general es situa al voltant de 4 hores, però és perfectament possible assecarlo en una hora si es vol. En cas que faci mal temps, si s'utilitza un assecador solar, se li pot afegir un radiador elèctric o de gas, o bé l'assecat pot acabar-se (o fer-se completament) en un assecador elèctric o de gas o fins i tot en un forn per a pa a baixes temperatures i ventilat.

Un assecador elèctric per a fruites i verdures, com l'aparell suís de marca Stöckli de 450 W de potència amb un plat de 30 cm de diàmetre, té una capacitat mitjana d'assecat de 20 g a l'hora (contats en sec). El seu dèbit de ventilació, per desgràcia, tendeix a ser un poc baix.

Si no es disposa d'electricitat, es pot utilitzar un assecador que s'escalfi a gas (butà, o metà de digestor). Es pot disposar d'un esquema en l'Annex 27. És molt important que el cremador disposi de seguretat.

La temperatura de la biomassa que està en procés d'assecat en un assecador amb plats superposats sense reciclatge de l'aire (com en el Stöckli) està teòricament prop de la temperatura de rosada de l'aire, independentment de la temperatura en sec d'aquest, sempre que quedi aigua lliure a la superfície de la biomassa; a la pràctica, la temperatura de la superfície està a mig camí d'aquesta temperatura de rosada i la temperatura de l'aire al principi de l'assecat, per a després pujar gradualment fins a arribar a la temperatura seca de l'aire al final de l'assecat. La temperatura a la part central del producte puja gradualment des de la seva temperatura inicial fins a arribar a la de l'aire. S'aconsella minimitzar el temps que passa el producte amb temperatures pròximes als 37°, la temperatura que afavoreix més la fermentació. També ha d'evitar-se escalfar el producte a més de 60°C quan encara està humit (al centre dels espaguetis), ja que amb això ens arriscaríem a coure'l al descompondre's (canvis de color). El primer plat rep l'aire a la seva temperatura màxima però amb temperatura de rosada mínima (normalment, al voltant de 20°C) mentre que els plats superiors reben un aire encara calent però carregat d'humitat, i per tant, amb una temperatura de rosada

elevada, tant més quan el dèbit d'aire és feble. S'entén l'interès per limitar el nombre de plats superposats i no impedir així el dèbit d'aire (mantenir nets i solts els filtres o mosquiteres que protegeixen l'entrada i sortida d'aire de l'aparell). A la pràctica, amb els assecadors Stoeckli, que tenen un dèbit d'aire poc potent, ens limitarem a posar un màxim de 5 plats amb una càrrega individual de 2 Kg de biomassa fresca per m<sup>2</sup> de plat (és a dir, 150g/plat). Si es col·loca massa biomassa fresca en relació al dèbit d'aire, o si el ventilador no funciona bé, o si la biomassa està massa mullada, o si el temps és massa humit, o si el termòstat està regulat a una temperatura massa baixa, llavors l'assecat no és tan ràpid, l'espirulina comença a deteriorar-se abans d'assecar-se, desprèn una olor anòmala (propiònic o butíric) i algunes vegades els espaguetis s'aixafen ("basen"), es queden com de plàstic mullat i no es desenganxen del plat: en aquests casos, és millor reservar el producte a l'alimentació animal o simplement utilitzar-la com abonament. Una espirulina que no s'hagi escurat bé està generalment massa mullada per a moldre-la, el que és un indici, però cal vigilar: de vegades un no s'adona que s'ha produït una deterioració ja que encara el producte pugui semblar sec i amb un bon color verd a la superficie pot ser que a l'interior estigui mullat i de color negre, o pot ser que sí hagi canviat de color i assecat completament; és, per tant, important verificar la qualitat del producte mitjançant la seva olor i gust i practicar-li un tall amb un ganivet per verificar que està dur i de color verd a l'interior. El que al principi del procés el producte desprengui olor no vol dir forçosament que el producte vagi a acabar sent de una qualitat dolenta o amb un gust desagradable.

Una biomassa de bona qualitat està be prnemsada i seca sense que els cilindres dels espaguetis es deformin: romanen cilíndrics, encara que evidentment de diàmetre reduït (estret). Si es deformen, és que la biomassa té tendència a "basar". Si està molt mullada, es "basa" clarament i s'"estén".

Amb freqüència preferim assecar l'espirulina en dues etapes, sobretot quan l'aire va carregat d'humitat:

a) un assecat a baixes temperatures (40-50°C) però amb un fort dèbit d'aire (velocitat de l'aire d'1 m/s), el que permet una càrrega elevada (20 Kg de biomassa fresca per m², en 5 plats), durada de 2,5 a 3 hores per a un percentatge d'aigua final de 15-20% i una humitat relativa de l'aire que surt del 10 al 20%.

b) un assecat amb un dèbit d'aire petit (per exemple, en assecadora Stoeckli) però a una temperatura més alta (65-80°C), el que assegura tant una certa pasteurització com l'extracció de l'aigua fins a un 4% (o fins i tot molt menys)

La càrrega màxima que va ser indicada en el punt a) s'entén que és per a una biomassa premsada de bona qualitat (dura); si està mullada , cal reduir la càrrega a 10, això és, 5kg/m².

L'assecat de la primera etapa va ser realitzat al voltant d'un ventilador de 50 W i de 30 cm de diàmetre, el que correspon als plats Stoeckli en els quals es recolza. Aquest ventilador aspira a través d'un filtre de pols (malla sintètica de la que es ven per a cobrir les campanes de cuina) aire que s'escalfa de nou posteriorment mitjançant un radiador elèctric d'aire (de potència de 1 a 2 KW). És suficient amb la primera etapa quan l'aire de l'ambient està molt sec (s'asseca a una humitat menor al 9% en 4 hores). La segona pot realitzar-se en assecadora elèctrica posant els espaguetis dins un sac de tela: és un sistema simple que els funciona satisfactòriament a diversos productors francesos.

Una altra manera d'assecar, que dóna als flocs un aspecte agradable, reemplaça l'extrusió per l'esplai en una capes fines damunt de paper film de plàstic mitjançant una espàtula (sistema aquest que ha estat utilitzat durant llarg temps a Madurai, Índia)

Test de fi d'assecat: veure el test del següent capítol 9.3

Per a establir la corba del % d'aigua en el producte en funció del temps d'assecat, és suficient amidar el pes brut dels plats durant l'assecat, la tara dels plats, el pes de la biomassa a assecar, el pes net sec i conèixer el % d'aigua al principi o a la fi de l'assecat a partir del % d'aigua de la biomassa premsada.

En cas que l'assecat hagi estat insuficient, és possible completar-lo posant-lo una vegada més a la assecadora a 65-80°C (posant el producte sobre els plats si ja ha estat mòlt) o, preferentment, ficant-lo en un recipient estanc amb un sac deshidratant (gel de silici o tamís moleculars). Aquests deshidratants es regeneren si es posen al forn.

Finalment, convé assenyalar que els assecadors termodinàmics (que deshumidifiquen mitjançant una bomba d'escalfor) tenen un bon futur a l'assecat de l'espirulina (són utilitzats des de 1999 a Adzopé, Costa d'Ivori en el SAP La Mé).

# 9.3) Trituració i test d'assecat

L'espirulina ben seca és cruixent, es separa amb facilitat del suport d'assecat i es pica o mol amb un molinet de cafè de manera que resulta una pols més o menys fina, al gust de cadascú. Els molins manuals apropiats són de marca Sfinx o Corona, molt comunes a molts països africans i d'Amèrica Llatina. També serviria un molinet de cafè elèctric.

La densitat aparent de l'espirulina extrudida, assecada i triturada és de 0,5 a 0,66 kg/litre segons el grau de fi que tingui (la densitat de la pròpia espirulina seca està prop d'1). Alguns prefereixen no triturar l'espirulina seca per a conservar la seva «teixidura» en bastonets que recorda més a les «algues», però llavors la seva densitat aparent és bastant més baixa.

L'espirulina ha de conservar menys del 9% d'aigua per a conservar-se adequadament. Amidar la proporció d'aigua és molt senzill amb el següent dispositiu (veure Annex 6.2.6): col·locar el producte a testejar dins un recipient tipus «Tupperware» d'aproximadament un litre, amb una coberta transparent que permeti la lectura del higròmetre col·locat (pegat amb celo) a l'interior.

Un producte suficientment sec ha de proporcionar un percentatge d'humitat relativa en equilibri inferior a 45% (a aproximadament 25°C) Perquè la mesura sigui exacta, és necessari que el conjunt d'instruments de mesura estigui en equilibri no solament en el grau d'humitat sinó també de temperatura, fet aquest que pot prendre un temps bastant llarg (d'1 a 2 hores).

# 9.4) Envasat

L'espirulina seca pot conservar-se per un temps llarg sense perdre massa de les seves propietats a condició d'estar emmagatzemat en bosses ben plenes i condicionades, protegides de la llum, de l'aire i de temperatures altes. Les bosses de plàstic aluminitzadess, multicapa i termosellables són molt apropiades, però és preferible fer el buit a la bossa mentre se la termosella (hi ha aparells comercials per a això). En aquest cas, el producte pot conservar-se fins a 5 anys. Si no es pot envasar al buit, l'absorció de l'oxigen que resta al sac convenientment segellat provocarà

frequentment, encara que no sempre, que es posi "al buit" de forma espontània en alguns dies si el recipient està ben segellat. Aquesta absorció d'oxigen s'acompanya de la destrucció d'almenys una part de components oxidables de l'espirulina, com ara el beta-carotè. De vegades passa que el sac s'infla en comptes de posar-se al buit : una explicació plausible podria ser l'alliberament de CO<sub>2</sub> per acidificació de les restes de bicarbonat (acidificicació per migració de l'interior, molt àcid, de les cèl·lules)

Si el producte ha d'utilitzar-se ràpidament (menys de 3 mesos), es pot emmagatzemar dins sacs de plàstic no metal·litzats.

Atenció: als rosegadors els hi encanta foradar aquests sacs. És necessari conservar-los en un lloc segur, com ara dins un recipient metàl·lic.

# 9.5) Control de qualitat bacteriològic

L'assecat a baixa temperatura (40 a 50 °C) té l'avantatge de preservar millor la qualitat nutricional del producte i el resultat és generalment correcte des del punt de vista bacteriològic. Cap microorganisme perillós pot sobreviure per llarg temps en un producte amb menys d'un 9% d'aigua, corresponent a una activitat de l'aigua inferior a 0,5 (< 50 % d'humitat relativa de l'aire en equilibri amb el producte a 25°C). L'espirulina no conté en principi espores pel pH del mitjà de cultiu. La qualitat microbiològica millora a l'emmagatzemar-se. El magatzematge en recipients hermètics permet la verificació a posteriori de la qualitat de l'assecat: si es forma un buit, és que el producte era correcte; si la bossa sembla estar inflada (poden passar uns quants mesos abans que això succeeixi) llavors és que hi ha fermentació o evolució enzimàtica o acidificació de les restes de bicarbonat residual, o o simplement que la pols s'ha fet més densa.

En cas de dubte sobre la qualitat bacteriològica o el grau d'assecat de l'espirulina assecada, és possible escalfar-la a 120°C a un forn o esterilitzador solar. L'escalfor seca, no obstant això, no destruïx bé les espores dels bacteris ni les toxines que puguin estar presents Aquesta és la raó per la qual segueix sent necessari el treballar respectant, almenys, les normes d'higiene bàsiques (no tocar el producte amb les mans, treballar lluny del terra, amb instruments o recipients d'acer inoxidable o plàstic,etc) i és bo verificar si el producte és conforme a les normes bacteriològiques vigents.

# 10) CONSUM

# 10.1) Alimentació humana

L'espirulina no substitueix als aliments calòrics com l'arròs, el blat, la patata o el blat de moro; tot i això sí que és un ingredient ideal en quan a les seues proteïnes que acompanya a la "bola africana" entre altres, per aportar, no sols proteïnes, sinó molts altres elements molt bons per la salut de tothom, especialment la dels més petits.

Es poden inventar milers de mescles i receptes molt bones amb l'espirulina, crua o bé cuinada, fresca o seca. No és exagerat dir que es pot fer alta gastronomia a base d'espirulina de qualitat, sobretot si està fresca.

Els consumidors solen preferir l'espirulina seca en forma d'espaguetis, al producte industrial assecat amb una atomitzador (spray dried), tan per la seua consistència física com per la seua olor. La presentació en forma d'espaguetis sol agradar força, però resulta més cara en termes d'embalatge.

#### 10.1.1)Biomassa fresca

La biomassa fresca de bona qualitat es pot consumir directament després d'haver-la premsat, o es pot fer conserva (congelada, amb sal, amb sucre, o assecada). Fresca es conserva entre dos o varis dies a la nevera, en funció de la velocitat que s'hagi refredat, segons la temperatura de conservació a la nevera i depenent també de l'estació de l'any; però sols es conserva si no ha estat rentada després del filtratge. Abans de consumir espirulina de la nevera, s'ha de comprovar que no faci olor.

El millor moment per recol·lectar-la és pel matí, si bé es pot fer una mica més tard i fer-ho just abans de dinar quan no es té nevera. Quan es guarda en una nevera en un recipient obert, apareixen sals residuals a la superfície del producte, donant-li un gust amarg: en aquest cas, s'ha de treure aquesta crosta. El millor mètode per guardar-la a la nevera és en forma de salsitxes sense que entrin en contacte amb l'aire, lo que evita el risc de caiguda d'aigua destil·lada de la pròpia nevera sobre la biomassa. En un clima temperat, l'espirulina fresca recollida durant l'hivern pot conservar-se durant molt de temps a la nevera a 3°C: entre 10 i 15 dies aproximadament.

Si s'escolleix congelar-la, vigili de no congelar unitats molt grans que després no es podran dividir quan es vulguin utilitzar; val més fer "glaçons", molt pràctics (es poden utilitzar els típics motlles de gel) o encara millor tauletes (com les de la xocolata), Per fer tauletes es pot seguir el mètode dirigit per Marc Pilar: ficar l'espirulina fresca en una bossa de congelador de polietilè i amassar uniformement amb un rodillo de pastisseria fins a tenir una capa uniforme de uns 2 o 3 mm de gruix, el qual posteriorment s'ha de "ratllar" en una quadrícula amb les mesures que es vulguin. La congelació ràpida permet que durant la descongelació no es perdi ficocianina (el cristalls de gel no foraden les cèl·lules d'espirulina). Per fer més fàcil l'emmagatzematge i el seu ús, els quadrats poden separar-se, simplement trencant al llarg de les ratlles de tallat, abans de ser guardats (preferentment al buit):



# 11) HIGIENE

La producció industrial d'un aliment que respecti les normes internacional, necessita seguir unes normes d'higiene severes, tan a nivell del material, com pel personal i l'envasat:

- Material de plàstic alimentari, vidre o inoxidable.
- Ús de guants, màscares i xarxes pels cabells.
- Filtrat de l'aire.
- Esterilització de les eines, del producte i dels envoltoris.

Aquestes mesures sembles estar fora de l'abast de les explotacions familiars o artesanes, però aquestes tenen que almenys, esforçar-se per treballar amb els mètodes més pulcres possibles. El nivell d'higiene a respectar és semblant al que és habitual a la cuina o al fregar els plats en un medi familiar o comunitari. Algunes recomanacions de sentit comú:

- Rentar-se les mans abans de treballar amb l'espirulina.
- Comprovar que no quedi espirulina a les cantonades dels materials després de neteja'ls (per exemple a les vores dels marcs de filtratge).
- Utilitzar preferentment eines de color blanc.
- Evitar el contacte de les restes d'espirulina seca amb la biomassa fresca.
- Evitar el contacte de les eines amb el terra, el ciment que son nius de microbis.
- No tocar mai l'espirulina seca directament amb les mans, per evitar el risc de contaminar-la amb els *estafilococos* daurats.
- Mantenir allunyats els rosegadors (existeixen aparells d'ultrasons amb aquest fi).
- Cobrir els recipients amb biomassa per evitar que s'embruti.

L'espirulina artesanal pot ser de molt bona qualitat. Però si es produeix, i sobre tot, si s'asseca i manipula, en un ambient ric en microbis "domèstics", no podrà ser consumida més que per les persones habituades a aquest entorn: es inquestionable comercialitzar-la a la ciutat o al mercat internacional, excepte si s'esterilitza i/o s'analitza per comprovar que compleix amb la normativa en vigor. Els xinesos esterilitzen l'espirulina per irradiació, però aquest mètode no es molt recomanable ja que destrueix vitamines i produeix radicals lliures; de totes maneres, aquest mètode tampoc està a l'abast de les artesanes.

Atenció: en alguns països, l'aigua de netejar pot està contaminada, el qual pot ser una font de contaminació pels productes que s'utilitzin. En aquest cas es recomana utilitzar sistemàticament lleixiu en tots els rentats, com un aclarit final d'aigua clorurada/clorada. (min 1 ppm de clor lliure).

# 12) ÚLTIMES RECOMANACIONS

Després del llarg aprenentatge de les condicions de cultiu de l'espirulina, l'autor subratlla les que considera més senzilles per l'artesà i que es redueixen en no intentar explotar la producció o el preu de cost.

#### En resum:

- Protegeix el seu recinte amb un hivernacle i ombra.
- Utilitzi l'aire com a forma principal de carboni.
- Resisteixi la temptació de recollir la capa flotant.
- Utilitzi oligoelements i ferro quelat.
- Si té que absentar-se per un temps, deixi el seu cultiu a gent de confiança.
- I sobretot pels que s'inicien i encara els falta habilitat:
  - Mantingui la concentració d'espirulina elevada (Secchi entre 2 i 3 màxim)
  - Raspalli a diari el fons i els costats del recinte.
  - Mantingui un nivell elevat de purga (> 1% dia)
  - Posi poca quantitat a l'assecadora (< 5 kg de biomassa fresca/ m2 de cada secció).

No oblidi comprovar el calibratge dels seus termòmetres i altres utensilis.

# **ANNEXES**

#### Sumari:

- A1) Influència dels diferents factors sobre el creixement.
- A2) Mesurar la concentració d'espirulina.
- A3) Mesurar la salinitat. (no-traduit)
- A4) Mesurar el pH. (no-traduit)
- A5) Mesurar l'alcalinitat. (no-traduit)
- A6) Tests de qualitat fàcils a realitzar. (no-traduit)
- A7) Absorció del CO2 atmosfèric. (no-traduit)
- A8) Interacicó Fotosíntesis/absorció de CO2. (no-traduit)
- A9) Productivitat en funció de l'ombratge
- A10) Consum d'aigua en funció de l'ombratge.
- A11) Correspondència entre el pH i l'addició de CO<sub>2</sub> (no-traduit)
- A12) Mescles de carbonat i bicarbonat de sodi. (no-traduit)
- A13) Neutralització de l'aigua de cendres. (no-traduit)
- A14) Composició de diversos productes. (no-traduit)
- A15) Material de llaboratori útil. (no-traduit)
- A16) Productes químics. (no-traduit)
- A17) Normes de l'espirulina. (no-traduit)
- A18) Límits de concentració al medi de cultliu. (no-traduit)
- A19) Composició elemental de l'espirulina. (no-traduit)
- A20) Composició nutricional de l'espirulina. (no-traduit)
- A21) Elements de preu de venta (no-traduit)
- A22) Per comparar l'espirulina i altres algues.
- A23) L'espirulina vista al microscopi (no-traduit)
- A24) Pels que tenen electricitat (no-traduit)
- A25) Hibernatge. (no-traduit)
- A26) Fòrmules d'Oligo-éléments (no-traduit)
- A27) Models d'assecadors (no-traduit)
- A28) Projecte semi-artesanal de 5 kg/dia (no-traduit)
- A29) Llista per començar un projecte de cultiu l'espirulina (no-traduit)
- A30) Espirulina humanitària als Països en Vies de Desenvolupament (no-inclòs)
- A31) Fer l'aigua menys dura (no-traduit)

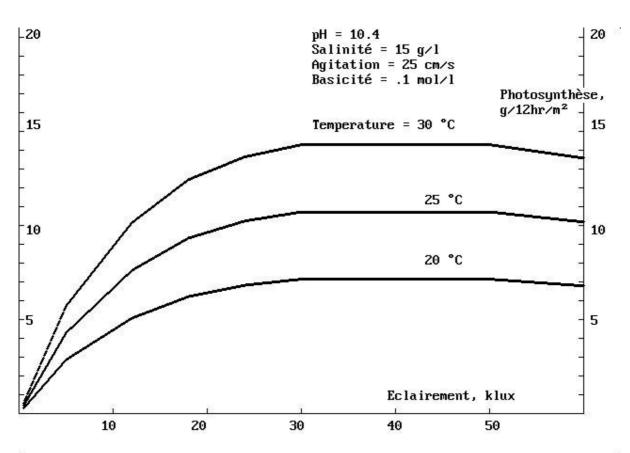
#### A1) Influència de diferents factors en el creixement.

Es pot admetre que la velocitat màxima de fotosíntesis, dins una bassa ben agitada, i dins les millors condicions de temperatura, il·luminació, alcalinitat, salinitat i pH està al voltant de 1,8 g/hora/m2. Aquesta velocitat pot variar en funció de la varietat d'espirulina i la presència de catalitzadors. Dins els programes de simulació, a l'apartat de càlcul (N. de la T.: l'apartat de càlcul no està traduït, per veure una traducció al castellà veure el document: *Diseño de módulos de producción a pequeña escala de Spirulina*. Anejo I) hem fet la hipòtesi que la funció de la fotosíntesi és directament proporcional a les funcions de la temperatura, la il·luminació, la salinitat, el pH i el grau d'agitació: Velocitat de fotosíntesis = k · f(T) · f(klux) · f(salinitat) · f(pH) · f(agitació)

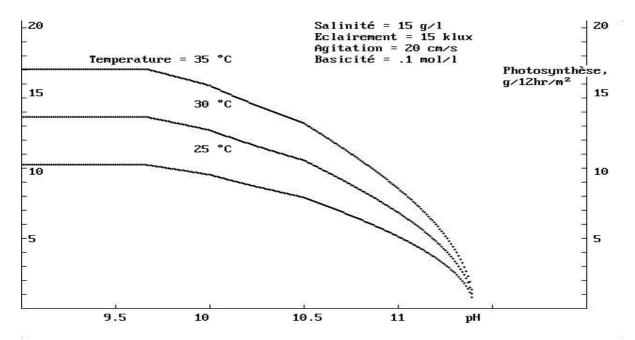
Aquesta hipòtesis no té una veritable base científica, però facilita els càlculs i dóna un resultants sovint pròxims a la realitat.

A continuació hi ha alguns exemples d'aquestes funcions que són inspirades de la Tesi de Zarrouk (que va tenir en compte els resultats experimentals).

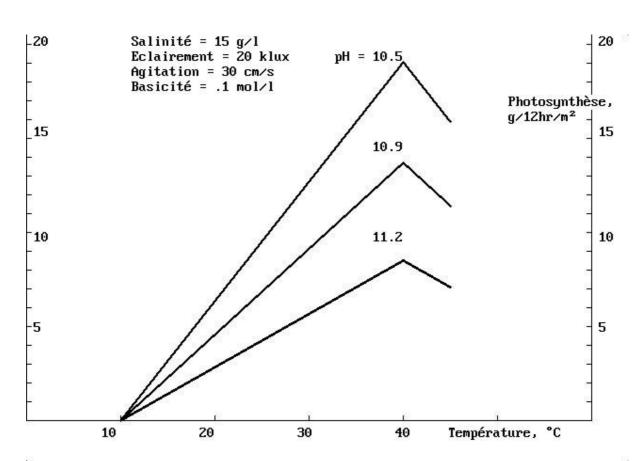
[Cal anotar que els resultats de Zarrouk daten dels anys 1960. Trenta anys més tard Vonshak va poder utilitzar mètodes més sofisticats per estudiar la fotosíntesis de l'espirulina i va deduir que l'espirulina estava sovint foto-inhibida, més o menys segons la temperatura, la salinitat, la concentració, l'agitació i la soca. Nosaltres ens mantenim amb el model de Zarrouk, més imperfecte però més simple:



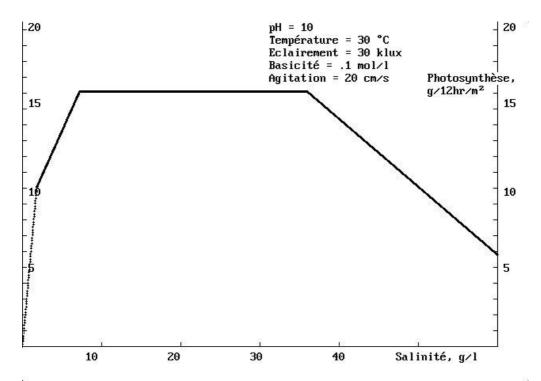
Velocitat de fotosíntesi de l'espirulina en funció de la il·luminació.



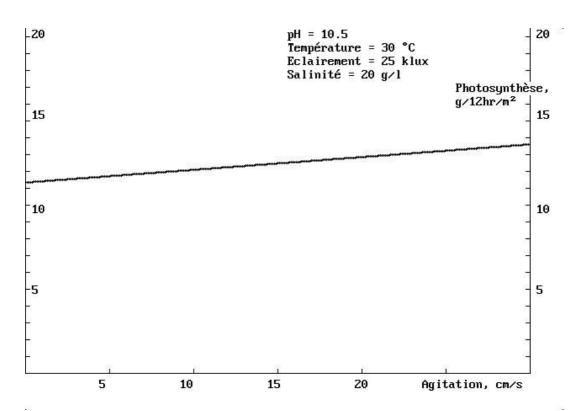
Velocitat de fotosíntesi de l'espirulina en funció del pH



Il·lustració 1: Velocitat de fotosíntesi de l'espirulina en funció de la temperatura del cultiu



Dibuix 1: Velocitat de fotosíntesi de l'espirulina en funció de la salinitat



Dibuix 2: Velocitat de fotosíntesi de l'espirulina en funció de l'agitació (funció més o menys imaginada, on hi intervé també el pH, vàlida per sistemes d'agitació habituals fins a 30 cm/s

#### A2) Mesurar la concentració d'espirulina

El "disc de Secchi" (instrument constituït per una barreta de 30 cm de llarg, graduat en centímetre, que a l'extrem inferior hi té un disc blanc), permet de mesurar de forma aproximada, depenent de l'observador, la il·luminació, l'angle i la dimensió del disc i la terbolesa del medi de cultiu i per la morfologia dels filaments d'espirulina, que a la vegades depén de la salinitat del medi. Els nombres donats a la taula van ser establerts per salinitat al voltant dels 12 g/litre.

Abans de mesurar, s'ha d'agitar el medi per homogeneïtzar-lo, després deixar decantar les boles algun minut. Anotem la profunditat, en centímetres, quan esdevé impossible de diferenciar el disc blanc.

Cadascú hauria de determinar la seua correlació entre: profunditat-concentració-terbolesa en condicions estàndard: filtrar un volum conegut en un paper de filtre, premsar delicadament, i assecar i després pesar.

Les dos taules de sota es van establir per l'autor per un disc blanc de 3 cm de diàmetre amb una il·luminació de 4000 lux (ombrejat però no gaire ombra).

La terbolesa es mesura sobre el filtratge sense espirulina amb un disc negre.

Secchi PER UN VARITETA ESPIRADA (LONAR)

Terbolesa nul·la (> 30 cm)	Terbolesa = 12 cm	<u>Terbolesa = 6 cm</u>
1,0 cm = 1,05 g/l		1.0  cm = 0.75  g/l
1.5  cm = 0.75		
2.0  cm = 0.55	2.0  cm = 0.5  g/l	2.0  cm = 0.35
2.5  cm = 0.43		
3.0  cm = 0.34	3.0  cm = 0.3	3.0  cm = 0.19
4.0  cm = 0.24	4.0  cm = 0.21	4.0  cm = 0.10
5.0  cm = 0.19	5.0  cm = 0.16	5.0  cm = 0.05
8.0  cm = 0.10		

Secchi PER UNA VARIETAT ONDULADA (PARACAS)

Terbolesa nul·la (> 30 cm)	<u>Terbolesa = 6 cm</u>	<u>Terbolesa = 4 cm</u>
1.0  cm = 1.0  g/l	1.0  cm = 0.85  g/l	1.0  cm = 0.70  g/l
1.5  cm = 0.55	1.5  cm = 0.50	1.5  cm = 0.36
2.0  cm = 0.40	2.0  cm = 0.35	2.0  cm = 0.20
3.0  cm = 0.24	3.0  cm = 0.20	2.5  cm = 0.11
4.0  cm = 0.16	4.0  cm = 0.10	3.0  cm = 0.06
5.0  cm = 0.11	5.0  cm = 0.05	
8.0  cm = 0.06		

N.B.

- 1) Jacques Falquet, d'Antenna Technologie, a mis au point un "Secchi électronique" dont la réponse est indépendante de la lumière et de l'opérateur, mais pas des autres facteurs.
- 2) L'utilisation d'un instrument pour mesurer la concentration en spiruline devient en général inutile lorsque l'opérateur a acquis suffisamment d'expérience. Il sait juger la concentration d'après l'apparence de la culture.

- 3) La concentration en spiruline peut aussi se mesurer au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 560 nm comme l'a fait Zarrouk dans sa thèse : il avait trouvé que 1 unité de densité optique correspond à 0,7 g de spiruline par litre.
- 4) La non prise en compte de la correction pour turbidité peut conduire à surestimer gravement la concentration et la productivité (si on la calcule à partir des concentrations mesurées).

#### A3) Mesure de la salinité du milieu de culture avec un densimètre

On admet que la présence de spirulines dans un milieu de culture ne modifie pas sa densité.

On utilise un densimètre pour densités supérieures à 1 (comme ceux vendus dans les boutiques d'aquariophilie ou pour mesurer la densité des urines). La lecture se fait au niveau inférieur du ménisque. Attendre que les microbulles d'air soient éliminées avant de faire la lecture.

```
La densité DT à la température T °C et la densité D20 à 20°C sont reliées par la formule: D20 = DT + 0,325 x (T - 20), g/l
```

La salinité SAL et D20 sont reliées par les formules approchées suivantes pour milieu de culture à base de sels de cendres ou de bicarbonate de sodium :

```
si D20 est supérieure à 1007,6 :

SAL = 1,250 x (D20 - 1007,6) + 10, g/litre

ou sinon par:

SAL = 1,041 x (D20 - 998), g/litre
```

Un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) permet de calculer facilement la salinité à partir de la température du milieu et de sa densité mesurée à cette température. Il permet de faire la même opération sur des solutions de NaCl et de carbonate de sodium.

N.B. Il existe d'autres instruments, plus modernes, pour mesurer la salinité : le conductivimètre et le réfractomètre. On note l'équivalence approximative suivante :  $1 \text{ g/l} = 2000 \text{ }\mu\text{S/cm}$ .

#### A4) Mesure du pH d'un milieu de culture

Seul un pHmètre de bonne qualité et bien étalonné permet de suivre l'évolution fine du pH d'une culture et de régler éventuellement la marche de la culture tout près du pH maximum autorisé de 11,2.

Le pH varie avec la température. Le pH mesuré à T°C doit être majoré de K x (T - 25) pour obtenir la valeur à la température standard de 25°C, le coefficient K dépendant de l'électrode et du milieu. Dans la pratique K varie dans la plage 0,006 à 0,018.

Certains pH-mètres sont équipés d'une échelle en milliVolts plus robuste que l'échelle en pH. Elle permet de calculer le pH à partir de l'indication en mV par la formule théorique:

pH à 
$$T^{\circ}C = (K1 - mV) \times K2/(273 + T)$$

où K1 et K2 sont deux constantes dépendant de l'électrode (électrode de verre) qu'on détermine par étalonnage à partir de solutions étalons de pH. Cette formule peut s'écrire, pour T = 25°C:

$$pH = A - mV/B$$

où A est le pH pour 0 mV et B est la pente en mV/ unité de pH. Des valeurs usuelles sont par exemple A = 7 et B = 50. La valeur des mV mesurés ne dépend pratiquement pas de la température, ce qui est heureux car cela dispense de faire une correction de température: il suffit d'appliquer la formule à la température de référence.

Pour prolonger la durée de vie d'un pH-mètre, le conserver à l'abri de l'humidité. Pour prolonger la durée de vie de son électrode, maintenir l'extrêmité sensible de l'électrode dans une solution saturée de chlorure de potassium dans l'eau distillée, à température supérieure à 15°C, et la rincer soigneusement avant et après les mesures, à l'eau propre et si possible distillée. Si des moisissures s'installent dans la solution de KCl, mieux vaut la renouveler.

La fragilité, la durée de vie limitée des électrodes, et leur coût élevé, rendent difficile l'utilisation d'un pH-mètre professionnel dans beaucoup de situations. Un pH-mètre bon marché, type "stylo", réétalonné fréquemment, peut rendre service, mais sa durée de vie risque d'être courte. Les papiers pH ne sont pas assez précis.

Les solutions étalons de pH vendues dans le commerce sont coûteuses, mais il est possible de les économiser en utilisant les solutions étalons approximatifs suivants (conserver celles à pH moyens à l'abri de la lumière pour éviter que des algues s'y développent spontanément) dont les pH indiqués correspondent à 25°C:

- acide chlorhydrique N (36,5 g/l): pH 0,1; N/10: pH 1; N/100: pH 2
- jus de citron: pH 2,3
- vinaigre "à 6 degrés" (6% d'acide acétique, densité 1,01): pH 2,8
- solution aqueuse à 5,8 g/l de phosphate monoammonique: pH 4
- jus de tomate: pH 4
- solution aqueuse à 5,8 g/l de phosphate monoammonique + 11 g/l de bicarbonate de sodium: pH 7
- bicarbonate de sodium N/10 (8,4 g/l): pH 8,3
- solution aqueuse à 5,3 g/l de carbonate de sodium + 4,2 g/l de bicarbonate de sodium (ou 1,4 g/l de soude + 5,46 g/l de bicarbonate de sodium) à l'équilibre avec l'atmosphère (conserver en contact avec l'atmosphère extérieure, ne pas boucher le récipient, rajouter de l'eau pour compenser l'évaporation): pH 9,8 (varie un peu selon teneur de l'air en CO2 et l'altitude)
- carbonate de sodium N/10 (10,6 g/l): pH 11,6
- soude N/100: pH 12; N/10: pH 13; N (40 g/l): pH 14

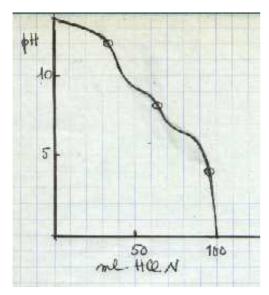
N.B. Avec de l'expérience il est possible de se passer de pH-mètre pour conduire une culture de spiruline, surtout si l'on cultive sous ombrage ou avec addition de bicarbonate de sodium ou de sucre.

#### A5) Mesure de l'alcalinité (alcalimétrie)

On neutralise progressivement un échantillon du milieu de culture ou de l'eau de cendre à étudier par un acide fort de normalité connue (par exemple 100 ml d'acide chlorhydrique concentré + 900 ml d'eau déminéralisée donne de l'acide "N", c'est-à-dire à une molécule-gramme/litre) jusqu'à pH = 4. Soit V le volume d'échantillon et V' le volume d'acide N utilisé. L'alcalinité est égale à V'/V,

moles/litre. N.B.: la chute du pH est très brusque en dessous de 4. Si le titre de l'acide n'est pas exactement N, corriger V' proportionnellement.

Exemple: alcalimétrie sur 200 ml d'eau de cendre partiellement carbonatée:



Sur ce graphique, à pH 4 on lit V' = 96 d'où alcalinité totale 96/200 = 0,48 N (soit 0,48 mole de base/litre). A pH 12 on lit V' = 33 d'où potasse libre 33/200 = 0,165 N.

A pH 8 on lit V' = 62 d'où carbonate de potasse = (62 - 33)/200 = 0,145 mole/l.

L'inflexion à pH 8 correspond à la transition carbonate/bicarbonate de sodium (ici il n'y avait pas de bicarbonate de sodium dans l'échantillon, celui qu'on dose provient de l'acidification du carbonate). Ce qu'on appelle couramment "alcalinité" ou "basicité" correspond à l'alcalinité totale mesurée à pH 4.

N.B. Si l'on n'a pas de ph-mètre, on peut utiliser un indicateur coloré virant autour de pH = 4, comme le méthylorange (10 gouttes de solution aqueuse à 1 % pour 100 ml d'échantillon à étudier) qui vire de l'orange au rouge, ou le papier au "rouge Congo".

Attention: L'acide chlorhydrique "concentré" vendu dans certains pays n'est qu'à 20% d'HCl.

#### A6) Tests de qualité faciles à réaliser

# A6.1) Test sur cultures

#### A6.1.1) Test de filtrabilité

Pour caractériser la vitesse de filtration, un test standard a été établi. Mesurer 400 g de culture à tester et la verser en 5 secondes dans un filtre à café garni d'un papier-filtre type "Grand Jury" N° 4 ou équivalent. Noter le poids filtré en une minute après la fin du versement. Un poids supérieur à 250 g correspond à une filtration facile. Ne pas négliger l'effet de la température ni de la nature du papier sur ce test. Il est recommandé d'établir sa propre échelle de valeurs avec le type de papier disponible. Il est intéressant de refaire le test sur le filtrat obtenu, ce qui donne une indication sur la part de résistance à la filtration due à la biomasse et celle due aux impuretés du milieu. Dans le cas de milieux très peu sales, il faut affiner la comparaison, en prenant du milieu neuf comme référence, et en comparant avec le poids de milieu neuf filtré (il reste environ 10 g de liquide dans le papier filtre et les récipients de mesures, donc le meilleur résultat possible est 390 g).

#### A6.1.2) Mesure de la turbidité du milieu de culture

Elle se fait à l'ombre sur le filtrat obtenu lors du test de filtration (A6.1.1), comme une mesure de concentration au disque de Secchi. Un disque de Secchi noir est préférable si la coloration est faible. Attendre que la mousse et les microbulles d'air soient éliminées avant de faire la lecture. Attention : les spirulines filtrant mal ont tendance à passer à travers le papier filtre, en rendant vert le filtrat ; dans ce cas il peut être préférable de refiltrer le filtrat sur papier double pour éliminer les spirulines avant de mesurer la turbidité vraie du milieu.

On constate que la dégradation initiale d'un milieu se détecte bien plus finement par la turbidité que par le test de filtration. Ainsi un filtrat de turbidité 25 cm peut très bien aller de pair avec un poids filtré pratiquement égal à 100 % de la référence. Alors que la turbidité d'un milieu neuf est très supérieure à 35 cm.

#### A6.1.3) Mesure de l'aptitude au lavage de la biomasse

Après le test de filtrabilité (§ A6.1.1), verser 400 ml d'eau douce dans le filtre en délayant la biomasse et noter le volume filtré en une minute. Si la biomasse est du type "lavable" (ses cellules n'éclatant pas au contact de l'eau douce) ce volume reste proche de celui du test de filtrabilité. Confirmer par un examen microscopique de la biomasse lavée.

#### A6.2) Tests sur spiruline

#### A6.2.1) Test de pH

Il est facile d'obtenir une idée de la qualité du lavage ou de l'essorage de la biomasse, soit en prenant le pH de la biomasse pressée (qui doit être entre 7 et 9), soit en mesurant le pH d'une suspension à 4 % de spiruline sèche dans l'eau. Lorsqu'une spiruline a été séchée à température assez haute (60 à 65°C) et qu'elle est réhydratée, ses cellules éclatent et le pH baisse, jusqu'à 5 parfois. Le pH obtenu est d'autant plus bas que la spiruline est bien essorée. Ce bas pH serait du à l'acidité interne des cellules et/ou à la fermentation commençante.

#### A6.2.2) Estimation des pigments

Dans le test de pH du capítol précédent les pigments sont libérés et il est possible de les voir et de juger de leur concentration. Le bleu est parfois lent à sortir (attendre 24 heures par sécurité, en agitant de temps en temps). Parfois il faut préalablement au test chauffer quelques minutes la poudre à 65 °C pour mieux faire éclater les cellules.

Pour apprécier la concentration en phycocyanine (pigment bleu), il suffit de mettre une goutte de solution décantée sur un papier buvard ou papier filtre bien plat et horizontal: on obtient un chromatogramme très net; la coloration et la surface de la tache bleue est une indication de la concentration en phycocyanine. Faire un test parallèle avec une spiruline de concentration connue en phycocyanine, avec la même concentration (4 % dans l'eau), et faire la comparaison des taches à partir de gouttes de même volume.

Pour apprécier la concentration en caroténoïdes (donc en béta-carotène qui représente environ la moitié des caroténoïdes), mélanger à la spiruline sèche en poudre 4 fois son poids d'alcool à 90° (alcool à brûler) ou d'acétone, agiter, couvrir et attendre 5 heures : les caroténoïdes passent en solution, et leur couleur jaune-brun plus ou moins forte est une mesure approximative de leur

concentration. Agiter, décanter les restes de poudre et utiliser le système de la tache sur papier filtre pour l'apprécier. Attention : la coloration de la tache est labile (elle s'efface peu à peu par oxydation).

#### A6.2.3) Test de couleur

La couleur verte de la spiruline de bonne qualité est facile à repérer. On peut avoir en stock des échantillons de référence pour comparaison. La nuance de vert dépend de la souche (la spiralée est moins foncée que l'ondulée) et du traitement (pressage., extrusion, centrifugation).

#### A6.2.4) Dosage colorimétrique simplifié de la phycocyanine

Une méthode plus précise pour mesurer la teneur en pigments est la colorimétrie. Partir de la même solution type "test de pH" qu'en Annexe A6.2.1. Soit C % la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4 %. Laisser décanter et prélever la solution bleue, la centrifuger si l'on dispose d'une centrifugeuse de laboratoire. Prélever la solution centrifugée ou bien décantée: environ 0,5 à 1 ml. Diluer ce prélèvement d'un facteur de 100 environ avec de l'eau. Soit DIL ce facteur de dilution, en volume. Mesurer au colorimètre ou spectrophotomètre (cuve à trajet optique 11 mm) la densité optique (DO) à 615 nanomètre (nm) de longueur d'onde, DO615, et à 652 nm, DO652. Calculer le % en poids de phycocyanine par la formule:

Une valeur correcte est: > 10 % de la spiruline sèche.

N.B. La DO est égale au logarithme (base 10) du rapport lumière incidente/lumière transmise ou du rapport 100 / (% de transmission) ou 100/ (100 - % d'absorption).

#### A6.2.5) Dosage colorimétrique simplifié des caroténoïdes

Ajouter 25 % d'acétone ou, à défaut, d'alcool à 90°, à une suspension type "test de pH" ci-dessus, et la maintenir 24 heures au réfrigérateur. Soit C la concentration en spiruline dans cette suspension. Décanter, et si possible centrifuger, et prélever P ml de la solution (environ 0,5 ml). Diluer à l'acétone ou à l'alcool. Soit DIL le facteur de dilution en volume. Mesurer la densité optique à 450 nm. Soit DO450 cette densité. La concentration en caroténoïdes dans la spiruline s'obtient par la formule:

Une valeur correcte est 2,5 mg/g. Le béta-carotène représente environ la moitié des caroténoïdes.

N.B. La DO est égale au logarithme (base 10) du rapport lumière incidente/lumière transmise ou du rapport 100 / (% de transmission) ou 100/(100 - % d'absorption).

#### A6.2.6) Dosage de l'humidité dans la spiruline sèche (% d'eau)

Mettre la spiruline à tester (environ 200 g, inutile de peser) dans un récipient genre "Tupperware" (deux litres maximum), étanche et suffisamment transparent pour pouvoir lire l'hygromètre digital placé (scotché) à l'intérieur. Suivre l'évolution du % d'humidité relative (% HR) de l'air dans le récipient jusqu'à l'équilibre (environ 2 heures) : si ce % est inférieur à 45, la spiruline est conforme à la norme (< 9 % d'eau). Pour que la mesure soit exacte il faut que l'ensemble de mesure soit en équilibre non seulement d'humidité mais de température autour de 25°C.

Dans le domaine qui nous intéresse (%HR entre 10 et 60), le % d'eau dans la spiruline est égal à 1 + (%HR)/6 d'après nos mesures et d'après Lembi (<u>BIBLIOGRAPHIE</u>).

#### A7-1) Absorption du gaz carbonique atmosphérique par le milieu de culture

Nous avons mesuré la vitesse d'absorption du CO2 de l'air en suivant la décroissance du pH du milieu de culture sans spiruline, avec agitation faible et intermittente. Connaissant la surface exposée à l'air, la concentration en alcali, le volume par m² et la correspondance entre pH et C = rapport molaire CO2/base (voir <u>Annexe 11</u>), il est facile d'en déduire la vitesse d'absorption du CO2 en fonction du pH. On trouve des valeurs croissantes de 0 pour le pH correspondant à l'équilibre avec l'air (vers pH 9,8), à l'équivalent d'environ 4,5 g de spiruline/jour/m² vers pH 11.

La théorie dit que la vitesse d'absorption est proportionnelle au coefficient d'absorption et à la différence des pressions de vapeur de CO2 dans l'air et sur le liquide. La pression de vapeur du CO2 sur une solution de carbonate/bicarbonate de sodium est donnée dans la littérature. Kohl et Riesenfield (1960) donnent dans "Gas Purification" de Kohl (BIBLIOGRAPHIE) à la page 117, une formule ayant comme variables la température, l'alcalinité et le rapport c (moles de CO2/mole de base), en mmHg:

```
pCO2 = 68,5 x b1,29x (2c - 1)^2 / [(1 - c) x (333 - 1,8 x t) x (0,0487 - 0,0006 x t)]

où b = alcalinité du milieu absorbant, gmoles de base forte/litre c = rapport molaire CO2/base correspondant au pH du milieu t = température du milieu,°C
```

L'absorption du CO2, exprimé en g de spiruline/jour/m² (en admettant 1,8 kg de CO2 par kg de spiruline) se calcule alors par la formule:

```
où:

ka = coefficient d'absorption,
gmoles de CO2 absorbés/heure/m²/atmosphère
vpm = teneur de l'air en CO2, ppm volumiques
alt = altitude, mètres
0,772 = (44 x 24)/(1,8 x 760)
```

0,772 x ka x [0,00076 x vpm x (1 - alt/10000) - pCO2]

La valeur de ka moyenne résultant des mesures d'absorption directes et indirectes (productivités des bassins de spiruline alimentés en carbone uniquement à partir de l'air) se situe autour de 23. Nos mesures directes effectuées en 1991 en bassines donnaient ka = 25. En août 1999 un bassin de 6 m² a été rempli de 1000 litres de milieu de culture à base de soude N/10 et agité comme une culture normale. Son pH est tombé de 12,44 à 10,68 en 16 jours, ce qui correspond à ka = 24. Donc ka = 20 donne une marge de sécurité importante.

#### A7-2) Analyse du CO2 dans l'air

La formule ci-dessus (§ A7-1) donnant pCO2 permet de mesurer la teneur de l'air en CO2 avec un matériel très simple, alors qu'un analyseur à infrarouge coûte 4000 U.S.\$. Il suffit de faire barboter

un petit débit d'air (mini compresseur d'aquarium) à travers un diffuseur au fond d'une éprouvette contenant une solution de bicarbonate de sodium à 8,4 g/l (alcalinité 0,1 N), et de mesurer le pH à l'équilibre. Le résultat dépend de la température de la solution. Cette méthode est évidemment inadaptée aux changements brusques de teneur de l'air en CO2, à cause de l'inertie de la solution. Pour diminuer cette inertie on a intérêt a réduire le volume de solution et à diviser finement le gaz barbottant.

Pour des mesures à long terme, conserver l'éprouvette à l'abri de la lumière pour éviter son verdissement et ajouter de l'eau distillée pour maintenir le niveau s'il y a évaporation (si la température de la solution est inférieure à la température de rosée de l'air analysé, la solution se diluera progressivement : dans ce cas il faut rajouter du bicarbonate de sodium pour maintenir sa alcalinité à 0,1 N).

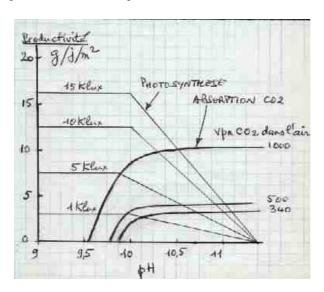
Un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) permet de calculer très facilement la teneur de l'air en CO2 (en vpm = volumes par millions) en fonction de la température et du pH de la solution à l'équilibre. Le programme fournit un tableau pH/vpm pour chaque température désirée.

#### A7-3) pH d'un milieu de culture en équilibre avec l'atmosphère

Il est facile de calculer ce pH en combinant les deux équations données au § A7-1 (<u>absorption</u>). Pour faciliter ce calcul un petit programme (voir <u>CALCUL</u>) été écrit.

## A8) Interaction Photosynthèse/Absorption de CO2

Ce graphique présente des exemples de variation de la vitesse d'absorption du CO2 de l'air



en fonction de la teneur de l'air en CO2 et du pH du milieu de culture, calculée d'après la formule donnée en Annexe A7 (<u>formuleCO2</u>), et exprimée en équivalant spiruline à raison de 1,8 g/g de spiruline, pour les conditions suivantes : altitude = 0, température = 30°C, ka = 18 et alcalinité = 0,1 N. On voit qu'il y a peu à gagner à travailler à pH > 10,3. Sur ce même graphique ont été reportées des exemples de variation de la vitesse de photosynthèse, exprimée dans la même unité que l'absorption du CO2 (en productivité de spiruline), en fonction du pH, pour une luminosité données, en l'absence d'autres facteurs limitant. Ces exemples ne sont donnés qu'à titre illustratifs sans valeur

précise des paramètres autres que le pH, simplement pour faire saisir le mécanisme de l'interaction. photosynthèse/absorptoion du CO2.

Si l'on suit une de ces courbes de vitesse de photosynthèse en partant du pH minimum, on voit que cette vitesse diminue au delà de pH 10. Simultanément la vitesse d'absorption du CO2 croit et il vient un moment où les deux vitesses sont égales (les deux courbes se croisent): à partir de là, le pH ne peut plus continuer à croître; ce point d'équilibre correspond à la vitesse de photosynthèse sous une atmosphère ayant la teneur en CO2 indiquée. Le pH à l'équilibre correspondant est d'autant plus haut que les conditions de photosynthèse (lumière, agitation) sont meilleures et que la teneur en CO2 de l'air est plus basse.

# A9) Productivitat en funció de l'ombratge.

Exemple calculat pel model de simulació, amb un taxa de purga de l'1% i amb una adició de 18 gCO2/dia/m2 :

```
0
         % d'ombra
                                      14,3
                                               g/dia/m<sup>2</sup>
         % d'ombra
                                               g/dia/m<sup>2</sup>
50
                                      13,3
         % d'ombra
75
                                       9.9
                                               g/dia/m<sup>2</sup>
         % d'ombra
80
                                       8,4
                                               g/dia/m<sup>2</sup>
```

S'observa una feble influència fins que l'ombra no arriba al 50%

# A10) Consum d'aigua en funció de l'ombratge

Exemple calculat amb el model de simulació amb una taxa de purga de l'1% i una adició de 18 gCO2 /dia/m2 :

```
% d'ombra
0
                                    litres d'aigua/kg d'espirulina
                             732
65
       % d'ombra
                             556
                                    litres d'aigua/kg d'espirulina
       % d'ombra
                                    litres d'aigua/kg d'espirulina
75
                             623
80
       % d'ombra
                     =
                             698
                                    litres d'aigua/kg d'espirulina
```

Existeix una consum mínim d'aigua al voltant del 65 % d'ombratge.

#### A11) Correspondance entre pH et rapport molaire C = CO2/base (soude ou potasse)

Cette relation est d'une grande importance pour de nombreux calculs intéressant la culture de spiruline. Elle a été établie expérimentalement dans la gamme usuelle d'alcalinité (autour de 0,1). Elle dépend faiblement de la valeur de l'alcalinité.

Un petit programme de calcul reproduit cette relation (voir <u>CALCUL</u>).

# A12) Mélanges de carbonate et bicarbonate de sodium

a) Pour obtenir une solution aqueuse ayant les caractéristiques suivantes : rapport molaire CO2/base forte = C et alcalinité b moles/litre, on peut dissoudre les produits suivants dans un litre d'eau :

```
Carbonate de sodium = 106 \times b (1 - C), grammes
```

+ Bicarbonate de sodium =  $84 \times b \times (2C - 1)$ , grammes

En mariant cette relation avec celle de l'Annexe A11 on peut calculer les mélanges carbonate + bicarbonate de sodium donnant un pH désiré pour une alcalinité donnée.

b) Pour passer d'une solution caractérisée par Ci et b à une solution caractérisée par Voir et b, on peut ajouter à un litre de la première

(Voir - Ci) / (1 - Voir) = E, litre d'eau + 84 x E x b, grammes de bicarbonate de sodium.

Mise en garde : le carbonate de sodium acheté peut être un mélange de carbonate et bicarbonate de sodium (soit par bicarbonatation naturelle du carbonate stocké dans certaines conditions, soit parce qu'il s'agit de natron ou trona) ; avant d'utiliser du carbonate vérifier sa teneur en bicarbonate en prenant le pH d'une solution à 5 g/l.

#### A13) Neutralisation de l'eau de cendre par le bicarbonate de sodium

L'extrait aqueux de cendres de bonne qualité présente généralement un très haut pH lorsqu'il vient d'être fait, jusqu'à 13. Avant de l'utiliser comme base de milieu de culture il faut attendre longtemps (par exemple 15 jours) pour que son pH baisse suffisamment par absorption de CO2 de l'air.

Un artifice pour rendre de tels extraits utilisables instantanément est d'y dissoudre du CO2 pur ou du bicarbonate de sodium. La quantité de bicarbonate de sodium ("bicarb") à ajouter pour abaisser le pH à 10,5 peut être calculée par l'une ou l'autre des formules suivantes:

```
bicarb = 187 \times (0.55 - C) \times b, g/l
bicarb = 1.83 \times S - 234 \times C \times S / (56 + 26 \times C), g/l
```

formules où:

C = rapport molaire CO2/base, déterminé à partir du pH (voir <u>Annexe 11</u>)

b = normalité alcaline de l'eau de cendre, moles/l

S = salinité alcaline (potasse + carbonate de potasse) de l'eau de cendre, g/l = b x (56 + 26 x C)

N.B. La salinité alcaline S peut se calculer approximativement à partir de la salinité totale déterminée par la densité (en général la salinité alcaline représente les 2/3 de la salinité totale), mais il est plus précis de la déterminer par alcalimétrie à partir de C et b.

Exemple: Une eau de cendres a une densité de 1,013 et un pH de 12,45 à 25°C, soit une salinité totale de 18 g/l et C = 0,4; l'alcalimétrie donne b = 0,2 soit une salinité alcaline S = 13,3; bicarbonate de sodium à ajouter = 5,6 g/l.

Application aux solutions de soude caustique :

L'obtention de milieux de culture à base de soude caustique peut être considérée comme un cas particulier de la neutralisation de l'eau de cendre (laquelle est une solution de potasse caustique). Ce cas peut être utile lorsque le carbonate est plus rare que la soude, pour obtenir des milieux à pH moyen. Exemples de mélanges de soude et de bicarbonate de sodium pour b = 0,1 moles/litre:

- 6,1 g de bicarbonate de sodium + 1,2 g de soude par litre d'eau = pH 10,0
- 5,6 g de bicarbonate de sodium + 1,4 de soude par litre d'eau = pH 10,2
- 5 g de bicarbonate de sodium + 1,7 de soude par litre d'eau = pH 10,5

N.B. L'utilisation de soude caustique exige les précautions d'emploi classiques pour les produits caustiques (gants, lunettes).

#### A14) Composition de divers produits

(N.B.: ppm = mg/litre ou mg/kg)

# Sel de mer brut (non raffiné) Analyse du sel de La Salorge de Guérande:

Phosphore: pratiquement 0; potassium: 1 à 2 g/kg; soufre: 3 à 7 g/kg; magnésium: 4 à 8 g/kg; calcium: 1 à 2 g/kg; cuivre: 2,5 ppm; zinc 0,5 à 2 ppm; manganèse: 4 à 8 ppm; fer 30 à 100 ppm.

#### Cendre de bois

Dumon donne la composition suivante de la cendre en g/kg: Phosphore: 43; soufre: 8; potassium 219; magnésium: 90; calcium 236; manganèse: 50; fer: 14. Teneur en solubles très variable (de 1 à 25 %).

Analyse moyenne de sels solubles extraits de cendres, vendus sur les marchés burkinabés : mélange de carbonate de potassium et bicarbonate de potassium (à 15 % en poids de bicarbonate de potassium) avec 10 % de sulfate dipotassique, 0,1 % de phosphate et de calcium et des traces de magnésium.

La solubilité du magnésium et du calcium contenus dans la cendre dépend beaucoup du pH: presque nulle à pH 13, elle est notable à pH 10 (environ 100 ppm de magnésium dans l'eau de cendre, qui est par ailleurs très riche en soufre: 1500 ppm).

D'après <a href="http://www.woodash.net/chart.html">http://www.woodash.net/chart.html</a>:

# Range in elemental composition of industrial fly ash and bottom ash samples

Element	Fly Ash
Boron	16.9 (8.6-22.4)
Potassium	19236-29526
Arsenic	1.0 (1.0-1.0)
Copper	53.5 (39.5-81.5)
Nickel	17.3 (14-24)
Cadmium	9.6 (3.0-21.1)
Lead	11.0 (4-20)
Selenium	1.0 (1.0-1.0)
Cobalt	6.4 (5.3-8.7)
Mercury	0.01 (.01-0.01)
Zinc	886 (522-1529)
Chromium	26.0 (17.0-40.7)

Molybdenum	11.3 (7-18)
* Mean and (Range) taken	
from analysis of 7 ash	
samples	
* All results expressed as	
mg/kg unless otherwise	
stated	

La cendre de bois a une composition très variable en fonction des essences mais aussi de la température de combustion, le potassium et le bore étant volatils au-dessus de 1000°C, d'après "Wood ash composition as a function of furnace temperature", Mahendra K. Misra et al. in Biomass and Bioenergy Vol.4, N°2, pp 103-116 (1993), Pergamon Press (<a href="http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1993/misra93a.pdf">http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1993/misra93a.pdf</a>). Cet article donne (page 111) les compositions élémentaires suivantes pour des cendres obtenues à 600°C, en g/kg de cendres:

- Pin : Ca = 290,5;K = 162,4 ; Mg = 70,3 ; S = 10,7 ; P = 8,4 ; Mn = 40,4 ; Zn = 3,6 ; Fe = 5,8 ; Al = 4,7 ; Na = 0,6 ; B = 0,6 ; Cu = 0,4
- Peuplier : Ca = 256.7 ; K = 79.3 ; Mg = 90.9 ; S = 10.2 ; P = 9.5 ; Mn = 4.5 ; Zn = 0.4 ; E = 3.2 ; E = 3.5 ; E = 3.5
- Chêne blanc : Ca = 313.5 ; K = 102.5 ; Mg = 75.7 : S = 12.1 ; P = 5.6 ; Mn = 1.4 ; Zn = 0.8 ; Fe = 0.9 ; Al = <0.6 ; Na = <0.3 ; Si = 1.3 ; B = 0.4 ; Cu = 0.2

#### **Eaux**

Les eaux de rivière ont en moyenne les teneurs typiques suivantes (en ppm): fer = 0,1; calcium = 40; magnésium = 14; soufre = 6. L'appoint d'eau au bassin apporte alors généralement assez de magnésium et de soufre.

L'eau du puits de la Cté du Pain de Vie à Arequipa, Pérou a les teneurs suivantes (en ppm): calcium = 72; magnésium = 16; soufre = 50; potassium et phosphore = négligeables. Si l'évaporation est de 2,4 mm/jour, l'appoint d'eau apporte le soufre et le magnésium, et bien sûr le calcium, pour 20 g de spiruline/jour/m².

L'eau du puits du Foyer de Charité de Bangui (RCA) ne contient pratiquement ni calcium ni magnésium ni fer. Il en est de même de l'eau de la ville de Linares, Xile.

L'eau du puits de l'Ecole d'Agriculture de Catemu, Xile, contient 96 ppm de calcium, 34 de magnésium et 130 de soufre.

Analyse de l'eau d'un lac à spirulines près de Tuléar (Madagascar) : sel = 35 g/l; bicarbonate + carbonates de sodium (pH 10) = 16 g/l; soufre (des sulfates) = 0,5 g/l; fer = 0,44 ppm; calcium = 6,5 ppm; magnésium = 80 ppm; phosphore = 3,6 ppm; azote = 0,3 ppm (dont 0,2 ammoniacal).

Eau du Gardon de Mialet : 22 ppm de calcium et 2,4 ppm de magnésium

Eau de mer (ppm): fer: 0,002 à 0,02 ; calcium: 400; magnésium: 1272; phosphore: 0,001 à 0,01; soufre: 900; bicarbonate < 150.

#### Urine humaine

Elle contient : Azote = 7 à 12 g/l; phosphore = 0.5 à 0.7 g/l; potassium = 2 à 3 g/l; soufre = 0.8 à 1.2 g/l; sel (chlorure de sodium) = 12 g/l; calcium = 0.13 g/l; magnésium = 0.1 g/l; fer = 0.3 mg/l; sucres = 0.15 g/l. Sa "production" est d'environ un litre par jour par personne.

#### Nitrate du Xile (Salitre potásico)

Ce produit naturel correspond à 2 NaNO3.KNO3; il contient 15 % d'azote, 18,4% de sodium, 11,6% de potassium, 1% de soufre (sous forme de sulfates), ainsi que: 0,12% de calcium, 0,14% de magnésium et de nombreux oligo-éléments (tous les micronutrients nécessaires pour la spiruline). Il est coloré en rose. A ne pas confondre avec le KNO3 (blanc) pur, extrait du salitre, donc également "naturel".

#### Sang:

Azote: 350 mg/l; phosphore: 30 à 70 mg/l; fer: 9 g/l

A15) Matériel de laboratoire utile : voir Annexe 29

# A16.1) Produits chimiques Produits chimiques utiles pour la spiruline

(Les % indiqués sont les % en poids sur produit pur sauf indication contraire; pm = poids molaire)

- Acide chlorhydrique HCl, pm = 36.5
- Acide citrique COOH-CH2-C(OH)(COOH)-CH2-COOH, pm = 192
- Acide orthoborique H3BO3, pm = 61,8 (17,14 % de bore)
- Acide phosphorique H3PO4, pm = 98 (31,6 % de phosphore)
- Acide sulfurique H2SO4, pm = 98 (32,7 % de soufre)
- Alum de chrome cristallisé, CrK(SO4)2, 12 H2O, pm = 499,4 (10,3 % de chrome)
- Ammoniac NH3, pm = 17 (82 % d'azote)
- Bicarbonate d'ammonium NH4HCO3, pm = 79 (17,7 % d'azote)
- Bicarbonate de sodium NaHCO3, pm = 84
- Bicarbonate de potassium KHCO3, pm = 100
- Butane C4H10, pm = 58 (82.8% de carbone)
- Carbonate de potassium K2CO3, pm = 138
- Carbonate de sodium Na2CO3, pm = 106
- Carbonate de sodium décahydraté Na2CO3, 10 H2O (= « cristaux de soude »), pm = 286
- Chaux Ca(OH)2, pm = 74 (54 % de calcium)
- Chlorure de calcium CaCl2, pm = 111 (36 % de calcium)
- Chlorure de manganèse cristallisé à 4 H2O, MnCl2.4H2O, pm = 198 (27 % de manganèse)
- Chlorure de potassium KCl, pm = 74,5 (52 % de potassium)
- Chlorure de sodium (sel de cuisine) NaCl, pm = 58,5 (60,7 % de chlore)
- Chlorure de zinc ZnCl2, pm = 136,3 (46,5 % de zinc) [hygroscopique!]
- EDTA (acide éthylène-diamino-tétracétique), pm = 292
- EDTA, sel disodique cristallisé à 2 H2O, pm = 372 (78 % d'EDTA)

- Gaz carbonique CO2, pm = 44 (27,3 % de carbone)
- Molybdate de sodium MoNa2O4,2H2O, pm = 242 (39,7% de molybdène)
- Nitrate d'ammonium ou ammonitrate (explosif à sec) NH4NO3, pm = 80 (35 % d'azote dont la moitié ammoniacal)
- Nitrate de calcium Ca(NO3)2, pm = 164 (24 % de calcium et 17 % d'azote)
- Nitrate de sodium NaNO3, pm = 85 (16,5 % d'azote; 72,9 % de NO3;

27 % de sodium)

- Nitrate de potassium KNO3, pm = 101 (13,9 % d'azote, soit 61,4% de N03; 38,6% de potassium; qualité technique à 91 % de pureté)
- Oxyde de molybdène, MoO3, pm = 143,9 (66 % de molybdène)
- Oxyde de sélénium, SeO2, pm = 111 (70,4 % de sélénium)
- Oxyde de zinc, ZnO, pm = 81.4 (80.3 % de zinc)
- Phosphore, pm = 31
- Phosphate monoammonique NH4H2PO4, pm = 115 (27 % de phosphore et 12 % d'azote ou 15 % de NH4)
- Phosphate diammonique (NH4)2HPO4, pm 132 = (23,4 % de phosphore et 21 % d'azote)
- Phosphate dipotassique K2HPO4, pm = 174 (17.8 % de phosphore et

44,8 % de potassium, pureté 97 %) [hygroscopique!]

- Phosphate disodique, Na2HPO4, 12H2O, pm = 358 (8,7 % de phosphore)
- Phosphate monopotassique KH2PO4, pm = 136 (22,7% de phosphore, 28,7% de potassium)
- Phosphate disodique Na2HPO4, 12 H2O, pm = 358 (8,7 % de phosphore)
- Phosphate tricalcique Ca3(PO4)2, pm = 310 (20 % de phosphore, 39 % de calcium), insoluble
- Phosphate trisodique, Na3PO4.12H2O, pm = 380 (8,1 % de phosphore)
- Potasse KOH, pm = 56 (70 % de potassium)
- Propane C3H8, pm = 44 (81,8 % de carbone)
- Salitre potassique: 15 % d'azote (soit 66 % de NO3), 18,4 % de sodium, 11,6 % de potassium, 1,2 g de calcium/kg, 1,4 g magnésium/kg, 10 g de soufre (soit 30 g de SO4)/kg
- Sélénite de sodium (Na2SeO3), pm = 173 (45,3 % de sélénium) [toxique]
- Soude caustique (ou « soude » ou hydroxyde de sodium), NaOH, pm = 40
- Sucre (= saccharose = sucrose = C12H22O11), pm = 342 (42 % de carbone)
- Sulfate de calcium CaSO4, pm = 136 (29 % de calcium, 23,5 % de soufre), très peu soluble
- Sulfate de cobalt à 7 H2O, CoSO4.7H2O, pm = 281,1 (20,3 % de cobalt)
- Sulfate de cuivre cristallisé à 5 H2O, SO4Cu.5H2O,pm = 249,7 (24,9 % de cuivre)
- Sulfate de magnésium cristallisé à 7 H2O (sel d'Epsom) MgSO4.7H2O, pm = 246,5 (9,6 % de magnésium et 12,7 % de soufre, pureté 98 %)
- Sulfate dipotassique K2SO4, pm = 174 (44,8 % de potassium et 18,4 % de soufre)
- Sulfate de fer cristallisé avec 7 H2O, FeSO4.7 H2O, pm =278 (20 % de fer)
- Sulfate de zinc cristallisé à 7 H2O, ZnSO4.7H2O, pm = 287,4 (22,7 % de zinc)
- Urée CO(NH2)2, pm = 60 (46 % d'azote, qualité engrais agricole)

#### **OXYDES** (dans les engrais)

(pm = poids molaire)

- Anhydride phosphorique P2O5 : pm = 142 (43,7 % de phosphore)
- Anhydride sulfurique SO3 : pm = 80 (40 % de soufre)
- Oxyde de potassium K2O : pm = 94 (83 % de potassium)
- Oxyde de magnésium MgO : pm = 40 (60 % de magnésium)

# Principaux IONS utiles pour la spiruline

(= poids d'un ion-g)

- Ammonium  $NH_4^+ = 18$ 

- Calcium Ca<sup>++</sup> = 40
   Chlorure Cl<sup>-</sup> = 35,5
- Bicarbonate HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> = 61
- Carbonate CO<sub>3</sub><sup>--</sup> = 60
- Fer ferreux Fe<sup>++</sup>, ferrique Fe<sup>+++</sup> = 56
- Hydrogène (proton) H<sup>+</sup> = 1
- Phosphate PO4 = 95 (32,6% de P)
- Potassium K<sup>+</sup> = 39
- Magnésium Mg<sup>++</sup> =24
- Nitrate NO<sub>3</sub> = 62 (22,6 % de N)
- Sodium Na<sup>+</sup> = 23
- Sulfate  $SO_4^- = 96 (33,3 \% \text{ de S})$
- Zinc  $Zn^{++} = 65$

# Principaux cristaux peu solubles pouvant précipiter dans les boues de spiruline

- Carbonate de calcium CaCO<sub>3</sub>
- Hydroxyde de magnésium Mg(OH)<sub>2</sub>
- Hydroxyde de zinc Zn (OH)<sub>2</sub>
- Phosphate de calcium Ca<sub>3</sub>(PO4)<sub>2</sub>
- Phosphate de fer FePO4
   Phosphate de magnésium et d'ammonium MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O

#### A16.3) Masse atomiques des éléments intéressant la spiruline

Liste des noms, des symboles et des masses atomiques (arrondies) des éléments :

Azote = N = 14

Bore = B = 11

Calcium = Ca = 40

Carbone = C = 12

Chlore = Cl = 35.5

Chrome = Cr = 52

Cobalt = Co = 59

Cuivre = Cu = 63.5

Fer = Fe = 56

Hydrogène = H = 1

Magnésium = Mg = 24

Manganèse = Mn = 55

Molybdène = Mo = 96

Oxygène = O = 16

Phosphore = P = 31

Potassium = K = 39

 $S\acute{e}l\acute{e}nium = Se = 28$ 

Sodium = Na = 23

Soufre = S = 32

Zinc = Zn = 65.4

# A16.4) Masses moléculaires des principaux oxydes et ions intéressant la spiruline

CO3 = 60 (73.3 % de CO2)HCO3 = 61 (72,1 % de CO2)K2O = 94 (83 % de K)

```
NH4 = 18 (77,8 % de N)

NO3 = 62 (22,6 % de N)

MgO = 40 (60 % de Mg)

P2O5 = 142 (43,7 % de P)

PO4 = 95 (32,6 % de P)

SO3 = 80 (40 % de S)

SO4 = 96 (33,3 % de S)
```

#### A17) Normes de la spiruline en France

(Selon Arrêté du 21/12/1979)

Par rapport au poids sec, en ppm (mg/kg):

- $\square$  Arsenic  $\leq 3$
- $\square$  Plomb  $\leq 5$
- $\Box$  Etain <= 5
- $\square$  Cadmium  $\leq 0.5$
- $\square$  Mercure  $\leq 0,1$
- $\Box$  Iode <= 5000

Tant pour le produit frais que le sec :

- $\square$  Germes aérobies (30°C) <= 100.000 / gramme
- □ Coliformes fécaux (44,5°C) < 10/ gramme
- □ Anaérobies sulfito-réducteurs (46°C) < 100/ gramme
- ☐ Clostridium perfringens <= 1/ gramme
- ☐ Staphylococcus aureus <= 100/ gramme
- □ Salmonella : absence dans 25 g.

N.B. Exemples de limites supérieures de pH pour la croissance de microorganismes des aliments (en présence de spirulines vivantes des valeurs différentes pourraient être obtenues) :

```
Staphylococcus = 9.8
Streptococcus = 9.3
Bacillus = 9.3
B. subtilis = 10
Clostridium botulinum
                           = 8.5
Clostridium perfringens = 8,5
Clostridium sporogenes = 9
Lactobacillus = 8
E. coli = 10
Salmonella (y compris salmonella typhi) = 9
Vibrio parahaemolyticus (cause de gastroentérites) = 11
Vibrio cholerae = 9.6
Pseudomonas = 8
Candida = 9.8
Saccharomyces = 8,6
Penicillium = 11
Aspergillus = 9.3
Listeria monocytogenes = 9.6
```

#### A18) Limites de concentrations dans le milieu de culture

Tous les chiffres expriment des mg/litre (ou ppm). Ceux donnés entre parenthèses sont ceux du milieu de culture de base de Zarrouk dans sa thèse (Zarrouk, page 4). Les maxi comportent en général une marge de sécurité :

```
Nitrate* = 440 \text{ à } 6600 (1800)
Ammonium* = 0.3 \text{ à } 30
Urée* < 50
Phosphate** = 0.1 \text{ à } 300 (270)
Potassium > 10 (665) et rapport pondéral K/Na < 5
Magnésium*** = 1 à 30 (19)
Sulfate** > 30 (675)
Fer > 0.4(2)
Calcium**** > 0.6 (14)
Bore = (0,5)
Manganèse = (0,5)
Zinc < 1 (0.05)
Cuivre < 0,001 ? (0,02)
Molybdène = (0,01)
Chrome = (0.01)
Nickel = (0.01)
Cobalt = (0.01)
```

#### Notes:

\* a) La mesure de la concentration en « ammonium » par colorimétrie avec le réactif de Nessler donne en réalité la somme ion ammonium NH4 + ammoniac libre NH3. Il est convenu qu'ammonium exprime ici la somme des deux.

Les doses minimum ne s'appliquent que s'il n'y a pas d'autre source d'azote. Les maxima pour ammonium et urée ne sont pas indépendants puisque l'urée s'hydrolyse en ammonium ; c'est l'ammonium total potentiel qui compte, ou plus précisément l'ammoniac libre. Il y a équilibre entre ammoniaque (NH4OH) et ammoniac (NH3) dans l'eau, l'ammoniaque se dissociant elle-même en ions ammonium (NH4) et hydroxyle (OH) : cet équilibre dépend du pH et de la température. L'odeur d'ammoniac est perceptible dès 20 ppm de NH4 + NH3 à pH 10 et 20 °C. Plus le pH est haut, plus il y a d'ammoniac libre à l'équilibre selon le tableau suivant (à 25°C) qui donne les % en poids :

```
pH 6 = 0 % de NH3 (100 % de NH4)
pH 8 = 4 %
pH 9 = 25 %
pH 10 = 78 %
pH 10,2 = 92 %
```

On pense que c'est l'ammoniac libre NH3 qui est toxique plutôt que l'ion ammonium NH4, ce qui expliquerait que des doses d'ammonium + ammoniac très supérieures à 30 ppm puissent ne pas être toxiques à bas pH. La souche ondulée (Paracas) résiste à 75 ppm de NH3 à pH 10,5 à 20 °C, du moins pendant un ou deux jours.

La vitesse d'hydrolyse de l'urée dépend elle-même du pH et de la température. Il nous est arrivé, en pleine saison de production, de mettre par erreur 350 ppm d'urée sans que la culture meure (hydrolyse lente?, bas pH?, évaporation rapide de NH3?, souche très résistante?).

D'après le rapport Melissa 2004 (page 195), une concentration en ammonium supérieure à 80 ppm sous éclairage > 3 Klux provoque une forte production d'EPS.

b) Il y a réduction possible du nitrate en ammoniac selon la réaction globale:

NO3K + 2CH2O (hydrate de carbone) = NH3 + 2CO2 + KOH

Notons en passant que la réduction du nitrate donne une augmentation de l'alcalinité, quel que soit l'agent réducteur. Cette équation signifie qu'un kilo de sucre risque d'être équivalant à 500 g d'urée en tant que production potentielle d'ammoniac. C'est donc la somme urée plus sucre qu'il faut considérer pour calculer la limite de toxicité, soit la règle pratique: "dose quotidienne d'urée + (dose quotidienne de sucre) / 2 < 50 - 1,7 x (concentration du milieu de culture en ammonium), où doses et concentration sont exprimées en mg/l (en l'absence de sucre ou de nitrates, inutile de tenir compte du sucre dans cette formule).

On a constaté des cas de réduction brusque de nitrates en l'absence de saccharose : l'agent réducteur serait dans ce cas l'exopolysaccharide. Ceci conduit à se méfier des teneurs en nitrates supérieures à 200 ppm qui sont pourtant très fréquentes.

\*\* D'après la thèse de J.F.<u>Cornet</u>: 0,7 ppm de phosphore et 3 ppm de soufre suffisent. Il est probable que 0,05 ppm de phosphore soit encore suffisant (cas de l'eau de mer). Mais il n'est pas recommandé de travailler à moins de 5 mg de PO4/litre, et, pour permettre une bonne productivité, il faut assurer plus de 20 mg/litre.

\*\*\* Le phosphate mixte de magnésium et d'ammonium et le phosphate de magnésium, très peu solubles, forment facilement des cristaux dans le milieu de culture si leur produit de solubilité est dépassé. Il y a une relation entre le phosphate, le magnésium et l'ammonium,.

\*\*\*\* A pH élevé (> 10,5) la solubilité du calcium diminue par précipitation de calcaire.

Les limites sont souvent soit inconnues ou mal définies. Par exemple le cuivre à la dose utilisée par Zarrouk devrait être toxique. Il se peut que les limites dépendent des conditions de culture.

#### A.19) Composition élémentaire de la spiruline :

Carbone = 468 g/kg
Oxygene = 279 g/kg
Azote = 124 g/kg
Hydrogene = 95 g/kg
Potassium = 6,4 -16 g/kg
Phosphore = 6,7 - 10\* g/kg
Soufre = 6 - 11 g/kg
Chlore = 4,2 g/kg
Magnésium = 2 - 3,5 g/kg
Sodium = 2 - 6 g/kg
Calcium = 1 - 7\*\* g/kg
Fer = 600 - 1800 mg/kg (= ppm)
Bore = 80 mg/kg (= ppm)
Manganèse = 25 - 37 mg/kg (= ppm)
Zinc = 40 \*\*\* mg/kg (= ppm)

```
Cuivre = 8 -10 mg/kg (= ppm)

Molybdène = 7 mg/kg (= ppm)

Nickel = 3 mg/kg (= ppm)

Chrome = 2,8 mg/kg (= ppm)

Vanadium = 2 mg/kg (= ppm)

Cobalt = 1,5 mg/kg (= ppm)

Selenium = 0,3 mg/kg (= ppm)
```

(les valeurs en caractères gras ont été retenues pour établir les calculs de nourriture MEDFEED) \* ou 12 quand la spiruline est produite dans des conditions où peu d'EPS se forme (d'après Thèse de J.F.<u>Cornet</u>, page 166).

\*\* très variable: un ouvrage récent donne une teneur en calcium de 7 g/kg (<u>Vonshak (1997)</u>, page 149) et il est possible d'atteindre 14g/kg.

\*\*\* peut être augmenté jusqu'à 1g/kg si souhaité.

La composition en produits nutritionnels est donnée en <u>Annexe 20</u>. On notera certaines différences importantes avec le tableau ci-dessus, notamment sur le calcium, le sodium et le fer; la composition de la spiruline est sujette à variations en fonction des conditions de culture. Ainsi <u>Cornet</u>, (page 125) indique pour la spiruline produite à faible flux lumineux (5 à 20 W/m²), en g/kg:

```
Carbone = 505 g/kg
Oxygène = 310 g/kg
Azote = 100 g/kg
Hydrogène = 67 g/kg
```

#### A20) COMPOSITION APPROXIMATIVE DE LA SPIRULINE EN ELEMENTS NUTRITIONNELS

```
Protéines = 65 % en poids (norme : >50)
Glucides = 15 % en poids
Minéraux = 7 % en poids (cendres totales : <10)
Lipides = 6 % en poids
Fibres = 2 % en poids
Eau = 5 % en poids (norme : <10)
```

Contenu énergétique = 5000 calories ou 20,9 kJ/ gramme sec.

D'après notices Flamant Vert :

#### VITAMINES

```
Béta-carotène = 1400 mg/kg = 2330 Unités Internationales (U.I.)
E (Tocophérol) = 100 mg/kg
B1 (Thiamine) = 35 mg/kg
B2 (Riboflavine) = 40 mg/kg
B3 ou PP (Niacine) = 140 mg/kg
B5 (Acide pantothénique) = 1 mg/kg
```

B8 ou H (Biotine) = 0.05 mg/kg

B12 (Cobalamine) = 3.2 mg/kg (cette B12 ne serait pas totalement assimilable par l'organisme : voir note ci-dessous <u>B12</u>)

Inositol = 640 mg/kg

K (Phylloquinone) = 20 mg/kg

#### **ACIDES AMINES**

Alanine = 47 g/kg

Arginine = 43 g/kg

Acide aspartique = 61 g/kg

Cystine = 6 g/kg

Acide glutamique = 91 g/kg

Glycine = 32 g/kg

Histidine = 10 g/kg

Isoleucine = 35 g/kg

Leucine = 54 g/kg

Lysine = 29 g/kg

Méthionine = 14 g/kg

Phénylalanine = 28 g/kg

Proline = 27 g/kg

Sérine = 32 g/kg

Thréonine = 32 g/kg

Tryptophane = 9 g/kg

Tyrosine = 30 g/kg

Valine = 40 g/kg

#### **PIGMENTS**

Phycocyanine = 150 g/kg

Chlorophylle a = 11 g/kg

Caroténoïdes = 3,7 g/kg

(dont béta-carotène = 1,4 g/kg)

#### **ACIDES GRAS ESSENTIELS**

Acide linoléique = 8 g/kg

Acide gamma-linolénique (AGL ou GLA) = 10 g/kg

Il ne doit pas y avoir d'acide alpha-linolénique (ALA) : s'il y en a c'est que la spiruline est contaminée par une autre cyanobactérie.

#### **ENZYME**

Superoxyde-dismutase = 1,5 millions d'unités / kg

**MINERAUX** 

Chrome = 3 mg/kg

Calcium = 10000 mg/kg

Cuivre = 12 mg/kg

Fer = 1500 mg/kg

Magnésium = 3000 mg/kg

Manganèse = 30 mg/kg

Phosphore = 8000 mg/kg

Potassium = 14000 mg/kg

Sodium = 4000 mg/kg Zinc = 30 mg/kg

#### N.B. concernant la vitamine B12

Il circule actuellement (en 2006) dans certains milieux végétariens/végétaliens une virulente aversion contre la spiruline, accusée d'empêcher l'assimilation de la vraie vitamine B12. Voici par exemple un texte relevé sur Internet à ce sujet :

"Les produits fermentés à base de soja, tels que miso, tempeh, shiitake (champignons secs), algue comme la spiruline, nori ne contiennent pratiquement aucune vitamine B12. Bien que ces aliments soient souvent vendus dans les magasins de santé comme étant "d'excellentes sources de vitamine B12" et qu'il soient consommés par la communauté macrobiotique, ils ne contiennent en réalité que très peu, au cas où ils en auraient, de B12 active (cobalamine). Au contraire, ils contiennent un élément analogue à la B12 qui n'est pas actif et qui risque en fait de bloquer l'absorption de la véritable vitamine B12."

Jacques Falquet résume très bien l'état actuel des connaissance sur ce sujet important ainsi :

- Une proportion variable (mais forte) de la vitamine B12 présente dans la spiruline est en fait un (ou des) analogue dépourvu d'activité B12 chez l'humain
- Cette proportion varie selon la spiruline analysée ; celle de Hawaï contiendrait 36 % de B12 active
- Les analogues de B12 existent dans de nombreux produits alimentaires et sont naturellement détectables dans la plasma humain
- La vitamine B12 présente dans les comprimés multi-vitamines peut se convertir spontanément en analogues non-assimilables
- La dangerosité réelle des différents analogues de B12 est actuellement inconnue (aucune étude clinique sérieuse)
- La littérature scientifique ne rapporte aucun cas de troubles liés à aux analogues de B12 de la spiruline (plus de 30 ans de consommation de spiruline dans les pays industriallisés)
- La population du Kanem (ou la spiruline est consommée traditionnellement) ne semble pas affectée de troubles particuliers (or l'anémie pernicieuse est mortelle et ses symptômes sont "spectaculaires").

#### A21) ELEMENTS DE PRIX DE REVIENT

(Prix en France TVA 20,6 % incluse et au détail sauf indication contraire)

(Ces prix sont exprimés en U.S. \$ sur la base de 1 Euro/U.S \$ et correspondent à 1999, mais ils restent en gros valables en 2006)

(Les indications de fournisseurs n'ont aucun caractère d'exclusivité ni de publicité)

[Nota de la traducció: Per veure preus a l'estat espanyol es pot consultar el document "Diseño de módulos de producción a pequeña escala de espirulina", al Anejo 4.]

#### **SOMMAIRE**

FilmsGéotextilesCouverturedes bassinsVisTôlesBoisPiquetsTubesParpaingsSableOmbragesIsolantsFiltresPompesPressoirs

Robinets Compteurs Compresseurs

<u>Programmateurs</u> <u>Photovoltaïque</u>

Motoréducteurs Extrudeuses Séchoirs

Broyeurs Emballages

Produits chimiques Laboratoire Analyses

Ensembles Spiruline Frêt

Argile pure (densité 2,2 kg/l) = 0,5 \$/kg

#### Films

- Polyéthylène noir, épaisseur 0,15 mm, largeur 3 m = 0,35 \$/m² (Arequipa)
- Polyéthylène noir, épaisseur 0,15 mm, largeur 8 m = 0,3 \$/m² par lot de 300 m² ou 1,17 \$/m² au détail
- Polyéthylène noir, épaisseur 0,3 mm, largeur 6,5 m = 0,98 \$/m² par lot de 400 m²
- EVÁ noir piscicole, épaisseur 0,5 mm, largeur 4, 6 ou 10 m, garanti 15 ans = 5,08 \$/m² au détail
- PVC vert alimentaire, épaisseur 0,5 mm, largeur 4 ou 6 m, garanti 10 ans = 6,77 \$/m² au détail
- PVC noir, épaisseur 0,5 mm, non alimentaire, largeur 2,05 m = 1,8 \$/m² par lot important
- PVC noir, épaisseur 1,2 mm, alimentaire et soudable facilement = 6,67 \$/m² en lot important
- PVC gris, épais. 1,2 mm, 1150 g/m², posé par entreprise = 4,5 \$/m² (Espagne)
- Géomembrane en PP souple qualité eau potable), épaiss. 1,5 mm, posée par entreprise = 20 \$/m²
- EPDM noir, épais. 1,14 mm, 1161g/m², en rouleau de 6,1 à 12,2 m de large = 6 \$/m²
- Polyéthylène de serre (au Cd), épaisseur 0,2 mm, largeur 6,5 m = 2 \$/m² au détail ou 0,8 \$/m² par rouleau de 390 m² (78 kg)
- Polyéthylène de serre (au Cd), épaisseur 0,25 mm, largeur 4 m = 0,6 \$/m² au détail (Pérou)
- Polyéthylène de serre (incolore), 200  $\mu$ , largeur 8 m, en rouleau de 3500 m² (713 kg) ou en rouleau de 400 m², largeur 6,5 m = ) = 0,75 % m²
- Toile cirée (qualité épaisse) = 8 \$/m² au détail

Fournisseurs de films et bâches : Celloplast, Route du Préaux, F53340-Ballée, Tél 43984602 ou revendeurs (Mr Bricolage, Coopératives agricoles)

Fournisseur de bâches EPDM : Giscosa, Diagonal, 611-10A planta, 08028 Barcelona (en France Véronique Bellity, 06.68.54.15.55)

#### Géotextiles

- Bidim, 200 g/m², 4 m de large = 1,68 \$/m² au détail

Fournisseurs : Matériaux pour le batiment

#### Couverture des bassins

- Fibre de verre-polyester, ondulée, largeur 0,9 m, longueur 2 m = 15,7 \$/ m² ou 11,3 \$/m² (Arequipa)
- verre à vitre 3 mm = 20 \$/m<sup>2</sup>
- Tôle ondulée galvanisée, largeur 0,9 m, longueur 2,5 m = 9,3 \$/m²
- Toiture traditionnelle africaine en chaume sur piquets et charpente bois traité = 8 \$/m² couvert (Koudougou, Burkina Faso)
- Serres "chapelle" accolées, couvertes en film de polyéthylène anti-UV (tout installées, ordinateur et ombrage compris)
- = 16 à 23 \$/m² utile couvert

Fournisseurs (serres) : Richel-Serres de France, Quartier de la Gare, F13810-Eygalières, www.richel.fr

#### Tôles

- Fibre de verre-polyester  $\,$  translucide plane, largeur 1 m = 12,3  $\,$  \$/m²
- Tôle galvanisée plane, épaisseur 0,5 mm, 1x2 m = 3,3 \$/m²

#### Bois (sapin brut non traité)

- Planches en bois brut, épaisseur 27 mm, longueur 2,5 m = 5,8 \$/m²
- Planches rabotées, épais. 14 mm, largeur 80 mm, long 2 m (en bois d'ayou) = 50 \$/m² (Mr Bricolage)
- Liteaux en bois brut, 27 x 27 mm, long. 2 m = 0,3 \$/m
- Liteaux en bois brut, 3 x 4 cm, long. 2 m = 0,5 \$/m
- Liteaux en bois brut, 8mm x 27 mm, long 2,5 m = 0,27 m = 0.27 (Mr Bricolage)
- Chevrons en bois brut,  $6 \times 8$  cm, longueur 5 m = 1,4 /m
- Carrelet rabotés, 14 mm x 14 mm, long 2 m = 0,83 \$/m (Mr Bricolage)

#### **Piquets**

- acier (en té) peints, long. 1 m. = 2,5 \$/pièce

#### Tubes

- acier galvanisé 50 mm, en longueurs de 6 m = 3,5 \$/m

#### Vis galvanisées

- 4x40 mm = 10 \$/200 pièces
- 4 x 30 mm (tirefond) = 0,05 \$ pièce
- 5 x 30 mm = 5 \$/100 pièces
- 8x60 mm (tirefond) =0.17 \$ pièce
- 8x100 mm (tirefond) = 0,23 \$ pièce

- 8x120 mm (tirefond) = 0,30 \$ pièce
- 8x140 mm (tirefond) = 0,55 \$ pièce

Parpaings ("blocs-ciment" en Belgique) de 50 x 20 x 20 cm (livrés sur chantier) = 1 \$/pièce

Sable (livré sur chantier) = 43 \$/mètre cube

#### Filets d'ombrage

- Canisse, largeur 2 m = 3,5 \$/m²; 1 \$/m² (Bangui, RCA); 1,2 \$/m² (Cotonou)
- Ombrière ("Malla Rashel" = plastique tissé), noire, 80 %, largeur 4 m = 1,1 \$/m² (Xile)
- Ombrière (plastique tissé), noire, 66 %, 50 m x 2,8 m = 1,45 \$/m<sup>2</sup>

Fournisseurs : Celloplast, Route du Préaux, F53340-Ballée, Tél 43984602 ou revendeurs (Mr Bricolage, Coopératives agricoles)

**Lampes horticoles** (système complet avec ballast et réflecteur, ampoule Philips Son-T Agro garantie 10.000 heures, 13 W/klux/m²)

400 Watt = 300 \$

#### Isolants

- flexible multicouche épaisseur 20 mm (équivalent à 200 mm de laine de roche), en rouleau de 1,58 m x 10 m = 15 \$/m²
- rigide polystyrène extrudé en plaque de 4 cm d'épaisseur = 9 \$/m²

#### Supports de toiles de filtre

- -"Grille" Polyéthylène maille 5 mm NORTENE, largeur 1 m = 4,7 \$/m² au détail
- Moustiquaire fibre de verre, largeur 0,6 ou 1 m = 6 \$/m² au détail
- Moustiquaire nylon, largeur 1 m = 1,35 \$/m² (Arequipa, Pérou)
- Filet nylon maille 10 mm = 3 \$/m<sup>2</sup>

#### Filtres

- Toile de filtration Polyester monofilament, 30 microns, largeur 1,42 m. = 51,3 \$/m²
- Toile de tamisage Polyester monofilament, 315 microns, largeur 1,58 m = 14,3 \$/m²
- Toile de filtration Polyester (Tergal), tissu ordinaire pour doublure = 1,7 à 3,3 \$/m²
- Cadre de sérigraphie, toile polyester monofilament 25 microns = 165 \$/m²

Fournisseur de toiles de filtration (30 µ): Nom du fournisseur : SEFAR FYLTIS Adresse : BP 3175 Lyon Cedex 03, France

tel 33 4 72 13 14 15 fax 33 4 04 72 13 14 00

Compte chèque postal : N° 7878 45 Y, Centre Lille

Référence de la toile 30  $\mu$  : Référence article : 72556AC

Désignation : Largeur 1420 mm, longueur 4 mètres, 07-30 /21 / PETEX

Prix (le 21/01/2000) : 362 FF le mètre, plus 20,6 % de TVA (sauf pour l'export) + environ 4 % pour (assurance + transport

+ emballage).

#### Aspirateurs

- Aspirateur professionnel, 300 m. cube/h, 20 kPa, 1200 W = 1000 \$
- Aspirateur ménager = 300 \$

#### Pompes

- Pompe d'aquarium, 1000 l/h, 14 W, 220 V = 31 \$

(Le prix peut descendre à 24 \$ pour des quantités importantes)

(On trouve en Turquie des pompes valables à un prix très inférieur)

- Pompe d'aquarium, 1200 l/h, 32 W, 220 V = 37 \$
- Pompe vide-cave, à vortex, 16000 l/h,1 kW, 220 V = 182 \$
- Pompe vide-cave, à vortex, 5000 à 12000 l/h, 300 à 400 W, 220 V = 100 \$
- Pompe vide-cave ordinaire, 5000 l/h, 200 à 300 W, 220 V = 60 \$
- -Transformateur de sécurité pour pompes d'aquarium (à écran d'isolement relié à la terre), 500 W = 100 \$

Fournisseurs (pompes d'aquarium Maxi-Jet) : Aquarium Systems 43 rue Gambetta, F57400-Sarrebourg, Tél 0387031098 ou magasins d'aquariophilie

#### Pressoirs

- Inox à vis supérieure, à jus de fruit, 4 litres = 190 \$

Fournisseur : Etablissements J. Perraud, 7 route Nationale, F42470- Saint-Symphorien-de-Lay, Tel 0477647879

#### Robinets

- tout plastique, diamètre 25 mm = 30 \$

#### Compteurs d'eau

- tout plastique, diamètre 38 mm = 350 \$

#### Compresseurs d'air

- Type aquarium : 300 l/h, 6 Watt = 27 \$
- Type aquarium : 150 l/h = 12 \$
- Sans huile: 8 bars, 12000 l/h, 1100 Watt, réservoir 6 litres = 215 \$
- Tuyau pour air comprimé 8 bars sur enrouleur, 20 m = 48 \$
- Tuyau pour air comprimé 8 bars en ressort, 5 m = 20 \$
- Tuyau PVC 4 mm pour aquarium = 0,53 \$/m
- Distributeur à 3 robinets pour aquarium = 4,7 \$

#### Programmateurs

- En 220 V alternatif = 20 à 28 \$ (France et Xile)
- En 12 V continu = 120 \$

#### Photovoltaïque

- Panneau Si monocristallin, 12 V, 22 W = 270 \$
- ( + Régulateur/chargeur de batterie = 100 \$)
- 12 V, 15 AH, étanche = 50 \$
- Convertisseurs de courant électrique de 12 V continu en 220 V

puissance 40 W = 120 \$ puissance 100 W = 230 \$

#### Motoréducteurs

- 180 W, 220 V = 251 \$
- 30 t/mn, 100 W, 220 V = 240 \$
- 20 t/mn, 80 W, 220 V = 208 \$
- 20,8 t/mn, 10 W restitués, 220 V, moteur asynchrone (Réf Crouzet 80667-009-INV) = 230 \$

#### Extrudeuses (Pistolets à extruder pour silicone en poches)

- manuel, capacité 300 ml, modèle SIKA = 37 \$ (47 \$ au Xile)
- manuel, capacité 300 ml, importé de Chine (de bonne qualité) = 3 \$
- manuel, capacité 600 ml, modèle SIKA MK5C = 49 \$
- à air comprimé, 600 ml, modèle SIKA DKR600 = 267 \$
- poussoir (pour faire les saucisses), inox, 10 litres, manuel = 500 \$
- gaine PE alimentaire 60µ, diamètre 50 mm = 24 \$/km

Fournisseurs (Pistolets Sika) : Sika, 101 rue de Tolbiac, F75654-Paris cedex13, Tel 0153797900 ou revendeurs (produits pour le batiment)

#### Séchoirs

- Séchoir électrique, puissance 600 Watt, modèle Stöckli avec 3 plateaux = 67 \$ (Suisse); le plateau supplémentaire = 1,7 \$

Fournisseurs : A. & J. Stoeckli, CH-8754- Netstal GL ou revendeurs (en Suisse)

#### **Broyeurs**

- broyeur manuel (Corona) = 20 \$ (Xile)

#### Emballages

- Sacs plastique métallisés thermoscellables à maintien vertical ou non, capacité 800 g de spiruline broyée = 0.41 \$ pièce par 5000 unités ou 0.34 \$ pièce par 10.000 unités ; capacité 100 g = 0.078 \$ pièce par 10.000 unités (non imprimés) ou 0.113 \$ imprimés.
- soude-sacs électrique pour sacs plastique aluminisés = 333 \$

Fournisseur: Bernhardt, BP 69, F62201-Boulogne/Mer, Tel 0321315091

#### Produits chimiques

- Acide chlorhydrique 33% = 1,17 \$/litre
- Acide citrique en sac de 25 kg = 1,9 \$/kg (Costa Rica)
- Acide phosphorique 78% en jerrican (24 % de P) = 0,6 \$/kg (Espagne)
- Acide phosphorique 85 % en bidon de 25 kg (27 % P) = 1 \$/kg (Costa Rica)
- Bicarbonate de sodium zootechnique en sac de 25 kg = 0,35 \$/kg
- Bicarbonate de sodium naturel U.S.A. à 99,8 % de pureté,

en sac de 25 kg = 0,4 \$/kg (Costa Rica)

- Bicarbonate de sodium alimentaire par 500 g = 2,7 \$/kg
- Butane liquide = 1,3 \$/kg en bouteilles de 13 kg consignées; 0,69 \$/kg (Xile); 0,713 \$/kg (Cotonou) + consigne
- Carbonate de sodium technique léger = 1 \$/kg
- Chlorure de sodium brut broyé en sac de 50 kg = 0,22 \$/kg;

0,083 \$/kg (Arequipa), 0,117 (Espagne)

- Chlorure de sodium alimentaire (sel fin) en sac de 50 kg = 0,27 \$/kg
- Chlorure de sodium alimentaire (sel fin) en sac de 10 kg = 0,38 \$/kg
- EDTA sel disodique, 2H2O, par 1 kg = 50 \$/kg
- Ferfol (Fer chélaté à l'EDTA à 13 % de fer), par 1 kg = 25 \$/kg
- Gaz carbonique liquide en bouteille de 30 kg =

0,863 \$/kg (Iquique, Xile) bouteille comprise,

ou 0,63 \$/kg (Arequipa, Pérou) + bouteille (2 \$/mois + caution 233 \$)

- Gaz carbonique liquide en bouteille de 22 kg =

3 \$/kg (Alès, France) + bouteille (8,8 \$/mois + caution 200 \$)

- Gaz carbonique liquide en bouteille de 25 kg (Xile) =

1,25 \$/kg + bouteille (5,8 \$/mois) [Détendeur = 12 \$]

- Gaz carbonique liquide en vrac, location du stockage compris, hors vaporisateur (coût 4500 \$), pour 6 tonnes/an = 0.5 \$/kg
- Nitrate de potasse cristallisé, engrais, en sac de 50 kg = 0,68 \$/kg
- Nitrate de soude du Xile, engrais à 16 % d'azote, en sac de 50 kg = 0,53 \$/kg
- Oligoéléments en solution concentrée (formule J. Falquet) = 0,033 \$/kg de spiruline
- Propane liquide vrac = 0,5 \$/kg
- Phosphate monoammonique cristallisé, engrais, en sac de 25 kg

= 1,05\$/kg

- Phosphate dipotassique technique en sac de 25 kg = 3,58 \$/kg
- Séquestrène 100 SG (Fer chélaté à l'EDDHA à 6 % de fer), par 1 kg = 42,5 \$/kg
- Soude anhydre en boite de 1,3 kg = 3,33 \$/kg, en sac de 25 kg = 1,63 \$/kg
- Sucre blanc en sac de 1 kg = 1 \$/kg (1,17 à Bangui)
- Sucre roux cristallisé en sac de 50 kg = 0,35 \$/kg (Arequipa)
- Sulfate dipotassique cristallisé en sac de 25 kg = 0,48 \$/kg

ou en sac de 5 kg = 2.3 /kg

- Sulfate de magnésium cristallisé, engrais, en sac de 25 kg = 0,32 \$/kg
- Sulfate de fer pour analyses (FeSO4, 7H2O), flacon de 1 kg = 35 \$/kg
- Sulfate de zinc (ZnSO4, 7H2O) pour analyses, flacon de 1kg = 25 \$/kg
- Urée = urée en perles, agricole, en sac de 50 kg = 0,25 \$/kg;

0,28 \$/kg (Espagne), 0,27 \$/kg (Arequipa)

#### Matériel de laboratoire

- Anémomètre (mesure de la vitesse du vent) de 0,2 à 30 m/s (chez Conrad en janvier 2006) = 30 euros
- Bassine en PE alimentaire blanc, 35 litres = 28 \$
- Balance électronique 5 kg = 50 \$
- Balance électronique 100 g (à 0,1 g) = 167 \$
  - Balance électronique 250 g (à 0,05 g) Voltcraft (chez Conrad janvier 2006) = 60 euros
  - Poids de calibration 100 g = 13 euros
- Détecteur de CO (chez Conrad en janvier 2006) = 40 euros
- Microscope monoculaire = 142 à 333 \$
- Microscope portable (x 100) = 50 \$
- Densimètre = 17 à 29 \$
- Thermomètre à alcool = 3 à 17 \$
- Thermomètre à Infra-Rouge (mesure sans contact) = 50 \$
- Thermomètre-humidimètre électronique = 25 à 98 \$
- pHmètre professionnel = 400 à 580 \$ (dont électrode 60 à 100 \$)
- ph-mètre-thermomètre = 277 \$
- ph-mètre "Piccolo" = 154 \$
- pHmètre simplifié (type "stylo") = 58 \$
- Etalons de pH 4 -7-10 (60 ampoules) = 100 \$
- Etalons de pH 4 7 10 (15 gélules ou "pillows") = 22 \$
- Aquamerck ammonium 0,5 10 ppm (150 dosages) = 64 \$
- Bandelettes Merckoquant nitrates (100 dosages) = 50 \$
- Bandelettes Merckoquant sulfates (100 dosages) = 37 \$
- Bandelettes Merckoquant calcium + magnésium (100 dosages) = 37 \$
- Bandelettes Merckoquant calcium 10 100 ppm (60 dosages) = 69 \$
- Analyseur de CO2 dans l'air, I.R. = 400 \$
- Luxmètre digital 50 Klux = 50 \$
- Oxymètre digital (Conrad 2007) = 216 \$

#### Analyses, \$/unité

- % protéines = 15
- % humidité = 7,8
- % cendres brutes = 6,7
- % GLA = 97
- Phosphore total = 18,3
- Nitrates = 24,7
- Fer = 26,2
- Autres métaux = 20 (moyenne)
- Béta-carotène = 100
- Microbiologie = 64

#### Ensembles

- Bassin de culture sous serre tunnel avec roue à aube (1000 m²) = 25 \$/m²
- Serre en film PE sur armature acier (1000 m²)

type tunnel =  $7 \text{ } \text{/m}^2$ 

type multichapelle aérable et ombrée = 19 \$/m² (en 2000)

- Ferme complète avec bassins sous serres, séchoirs à claies, terrain, etc... = 250 \$/m² (en 2002)

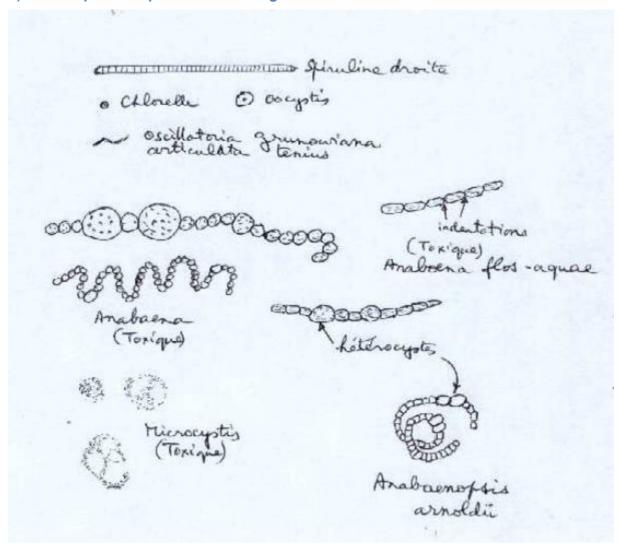
#### Spiruline sèche (Prix de vente)

- Le prix de vente de la spiruline sèche est extrêmement variable selon les lieux, les quantités, la qualité, l'emballage, la conjoncture, etc. En 1999 le prix international par tonne est tombé autour de 10 \$/kg sous la pression chinoise. Au détail on trouve de la spiruline en poudre autour de 80 \$/kg, tandis qu'en gélules elle se vend en pharmacie autour de 300 \$/kg.

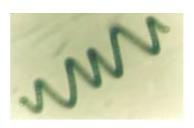
#### Frêt

par avion, de Madagascar en France = 3,33 \$/kg

#### A22) Per comparar l'espirulina i altres algues.



#### A23) SPIRULINE VUE AU MICROSCOPE

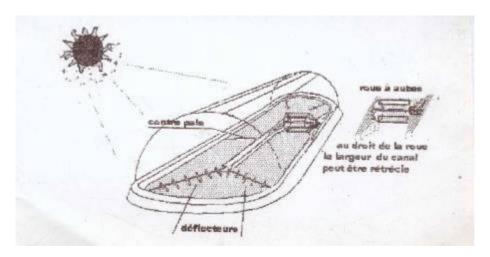


Le poids sec d'un filament moyen de spiruline est d'environ 3µg.

Le sens d'enroulement des spires des spirulines spiralées est le plus souvent le sens inverse des aiguilles d'une montre si on regarde par dessus la spirale en descendant, mais pas toujours. Cela dépend des souches mais non de l'hémisphère Nord ou Sud. Et à l'intérieur d'une même souche (Lonar par exemple) on peut trouver des trichomes spiralés dans les deux sens se cotoyant.

#### A24) POUR CEUX QUI ONT DE L'ELECTRICITE:

#### **A24.1) AGITATION PAR ROUE A AUBES**



Les bassins agités par roue à aubes sont plus longs que larges, avec extrêmités arrondies et une cloison centrale et de préférence des déflecteurs aux changements de direction dans les angles. La roue à aube est installée sur un des côtés ou à une extrémité, entre bord et cloison centrale. L'axe de rotation repose sur deux roulements à billes fixés sur des supports solides, généralement bétonnés. Au droit de la roue la largeur du canal peut être rétrécie sans inconvénient; au contraire cela permet de renforcer les supports et de raccourcir la roue donc de la rendre plus solide.

La roue comprend par exemple 4 ou 6 pales ou ailettes solidement maintenues sur des disques solidaires de l'axe et de diamètre voisin de 80 cm. La hauteur des pales est de l'ordre de 20 cm. Pour minimiser les dégâts causés aux spirulines, il est bon d'arrondir le bord d'attaque des pales. La construction de la roue à aubes doit se faire de préférence en plastique (PVC rigide d'épaisseur 4 mmm ou plus) ou en bois car presque tous les métaux sont corrodés à la longue. Le contreplaqué de qualité résistant à l'eau bouillante convient et il est pratique. L'acier galvanisé et certains inox (304) résistent en général. L'axe est généralement métallique, mais il faut prévoir son remplacement ainsi que celui des roulements à billes qui le supportent et qui risquent fort d'être corrodés. Un motoréducteur électrique entraîne l'axe à une vitesse de 20 tours par minute environ. Sa puissance utile doit être de l'ordre de 1 Watt/m<sup>2</sup> de bassin ou plus ; sous serre, prévoir une arrivée d'air extérieur sur le ventilateur du moteur. Un variateur de vitesse est commode mais onéreux. Une transmission par courroie est recommandée. Pour les petits bassins, la roue à aubes peut être montée directement sur l'axe du moto réducteur. Elle peut ne comporter que deux pales, ce qui a pour effet de provoquer une houle artificielle se propageant jusqu'à l'extrémité du bassin et contribuant à l'agitation. Il est utile de protéger le fond du bassin, s'il est en film plastique, au droit des pales: par exemple par des plaques inox ou ciment (on peut couler du ciment sur place). La distance entre le bas des pales et le fond du bassin ou ces plaques doit être faible, mais suffisante pour ne pas risquer de toucher le fond ni d'endommager les spirulines (5 cm paraît correct).

On admet que la vitesse de circulation de la culture doit être de 20 cm/seconde pour obtenir une bonne agitation; théoriquement le régime turbulent est atteint dès que cette vitesse dépasse 10/z (z = profondeur en cm) si la concentration en spiruline est inférieure à 3 g/l. Pour réduire les irrégularités de débits et l'accumulation des boues en certains endroits, on installe des déflecteurs ou des contrepales créant des remous :

Il y a un débat concernant le meilleur sens de rotation du liquide dans le bassin : pour certains le meilleur serait le sens contraire aux aiguilles d'une montre. Pour d'autres le sens des aiguilles d'une montre serait tabou. En ce qui nous concerne, nous n'avons aucune recommandation spéciale.

#### A24.2) FILTRATION SOUS VIDE

L'utilisation d'un vide modéré (un aspirateur donnant un vide de 15 kPa - soit 1,5 m de colonne d'eau - suffit) permet d'accélérer la vitesse de filtration. On utilise pour cela une toile reposant sur un support rigide (grille), posé sur un réservoir étanche résistant au vide. Ce réservoir est relié à l'aspirateur. La culture à filtrer est pompée dans le bassin à travers une crépine servant de tamis ou envoyée sur la toile de filtration à travers un tamis. Une pompe vide-cave de type "à vortex" est recommandée pour ne pas casser trop de spirulines. Une pompe type vide-cave, à commande automatique par flotteur et munie sur son refoulement d'un clapet de non-retour bien étanche, assure le maintien automatique du niveau de filtrat dans le réservoir sous vide.

Au lieu du couple aspirateur+pompe vide cave on peut utiliser une pompe à vide à anneau liquide (p. ex. pompe Sihi) capable d'aspirer à la fois l'air et l'eau.

En cours de filtration on décolmate au besoin la toile avec une raclette caoutchouc. On arrête l'arrivée de liquide et on attend que la biomasse soit suffisamment pauvre en eau, puis on récupère la biomasse à la raclette.

La vitesse de filtration dépend bien entendu de la qualité de la culture et de la fréquence des décolmatages, mais elle peut se situer autour de 8 kg de spiruline sèche/heure/m² de filtre.

#### **A24.3) FILTRATION SOUS PRESSION**

La culture pompée à travers un tamis peut être envoyée dans un sac en forme de manche fermé par une pince, flottant dans le bassin. Si le sac est vertical et hors de la culture, de petit diamètre (< 6 cm) et de grande longueur (> un mètre), la filtration peut se faire par gravité avec une bonne efficacité.

#### **A24.4) FILTRATION CONTINUE**

Divers dispositifs existent (tamis vibrants, tambours rotatifs), mais sont plus adaptés aux conditions industrielles qu'artisanales.

#### **A24.5) ESSORAGE PAR LE VIDE** (pour remplacer le pressage)

Il s'agit d'une variante du § A24.2. Si la biomasse est laissée sur le filtre sous vide suffisamment longtemps (par exemple 10 minutes pour une épaisseur de 5 mm), l'eau interstitielle s'élimine comme dans le cas d'un pressage. Par rapport au pressage, ce système permet le lavage éventuel de la biomasse (opération que nous estimons généralement inutile, voire nuisible selon les cas, voir § 8.2), mais parfois indispensable quand le milieu de culture est trop sale.

On peut aussi n'utiliser le filtre à vide que pour l'essorage; dans ce cas le volume de liquide est suffisamment faible pour qu'on puisse se passer de la pompe vide-cave dans le réservoir.

Un bon essorage peut exiger un vide plus fort que la simple filtration.

#### **A24.6) ESSORAGE PAR ESSOREUSE** (pour remplacer le pressage)

L'essorage de la biomasse sortant du filtre peut aussi se faire dans une essoreuse à panier (à axe vertical) munie d'une toile de filtre et tournant à vitesse suffisamment modérée pour ne pas casser la spiruline. Ce système permet aussi le lavage de la biomasse. Nous ne le considérons pas à la portée d'un artisan

#### **A25.7) ESSORAGE PAR GAZ COMPRIME** (pour remplacer le pressage)

C'est une variante du § A25.5 où le vide est remplacé par une pression de gaz pouvant aller jusqu'à 5 bars sans risquer de casser la spiruline si la biomasse est de qualité correcte.

#### A25) HIVERNAGE

Dans les zones à hivers froids, les récoltes peuvent se poursuivre tant que la température maximum ne descend pas en dessous de  $15^{\circ}$ C. Ensuite, lorsque la température des bassins est inférieure à  $10^{\circ}$ C, il arrive que la spiruline décante au fond et jaunisse. Il faut éviter d'aborder l'hiver à pH <  $10^{\circ}$  et de trop agiter à la pompe pendant l'hiver pour éviter le risque de "blanchiment" du milieu et la mort des spirulines.

Si l'hiver est assez doux (> - 8°C) et si le milieu n'est pas carencé, la spiruline peut très bien survivre sous serre et redémarrer aux beaux jours, mais il est prudent d'ombrer tant que la température du bassin reste inférieure à 10 - 15°C. En cours d'hiver il est bon d'agiter de temps à autre au balai pour remettre en suspension et aérer les boues du fond. En fin d'hiver, si tout se passe bien, le milieu de culture se trouve rénové (turbidité très faible, peu ou pas de boues, pH = 10, récoltabilité excellente). Cependant il y a le danger théorique que pendant l'hiver des contaminations puissent se produire (algues étrangères et éventuellement toxiques) : faire un test de toxicité avant de recommencer à récolter.

Dans les zones à forte saison des pluies il faut couvrir les bassins. Si ce n'est pas possible, on peut continuer les récoltes en purgeant le milieu de culture, et en rajoutant les sels correspondants, mais cela coûte cher en sels tandis que la récolte risque de ne pas pouvoir se sécher. On peut donc préférer arrêter la production, puis vider et nettoyer à fond les bassins et redémarrer la culture au retour du beau temps.

Il faut toujours conserver une ou plusieurs réserves de semence de bonne qualité, mais a fortiori en cas d'arrêt annuel. La réserve doit être conservée dans un endroit abrité des intempéries, à l'ombre (pas à l'obscurité pendant le jour), à température modérée (20 à 30 °C) et agitée de temps en temps. Elle ne doit être ni trop concentrée ni trop diluée en spiruline (Secchi = 2 à 4 convient). Il faut "repiquer" la culture de réserve, c'est-à-dire démarrer une autre réserve, ensemencée à partir de la première tous les deux à trois mois pour maintenir sa qualité. Nota: une culture, même de réserve, ne doit jamais être fermée de manière étanche: elle a besoin d'air, et un bon moyen de l'apporter est d'agiter par bullage d'air.

En cas d'arrêt prolongé des récoltes sur un bassin en production, il faut l'ombrer en permanence et l'agiter au moins de temps en temps.

#### A26) FORMULES D'OLIGO-ELEMENTS

A26-1) Formule de Jacques Falquet, 1997 (Antenna Technologie, Genève) :

(Solution concentrée pour faciliter le transport)

```
Acide citrique = 100 g / litre

*Borax = 75 g / litre

MnNO3,4 H2O = 45,6 g / litre

ZnSO4,7H2O = 35 g / litre

CuNO3,3H2O = 9,2 g / litre

*KCr(SO4)2,12 H2O (alum de chrome) = 5,4 g / litre

*MoNa2O4,2H2O (Molybdate de sodium) = 3,5 g / litre

*Co(NO3)2,6H2O = 0,2 g / litre

*Ni(NO3)2,6H2O = 2,9 g / litre

*NH4VO3 (monovanadate d'ammonium) = 0,94 g / litre

*Na2Se2O3,H2O (sélénite de sodium) = 0,2 g / litre

Eau distillée = qsp 1 litre
```

A noter qu'en vieillissant cette solution dégage une odeur nauséabonde de gaz sulfuré (composé du sélénium volatil et toxique).

\*Ces éléments peuvent être omis au besoin.

Dose à utiliser : 5 ml contiennent les oligo-éléments d'un kg de spiruline récolté.

## A26-2) Formule simplifiée de J.P. Jourdan (sans sélénium, mais avec supplément de zinc)

```
ZnSO4,7H2O = 20 g / litre
Sel disodique d'EDTA,2H2O = 7 g / litre (peut être remplacé par 10 g d'acide citrique/l)
MnCl2,4H2O = 2 g / litre
CuSO4,5H2O = 0,5 g / litre
Eau déminéralisée ou de faible dureté = qsp 1 litre
```

Dose moyenne à utiliser = 25 à 100 ml/kg récolté, selon les autres apports d'oligoéléments; si on ne connaît pas ces autres apports, essayer 50 ml/kg et chercher la meilleure dose par tâtonnements. La dose de 100 ml/kg apporte 500 mg de zinc/kg, ce qui est considéré comme souhaitable du point de vue nutritionnel par bon nombre de nutritionnistes.

A la dose de 50 ml/kg le coût de cette formule est négligeable: < 0,03 \$/kg de spiruline.

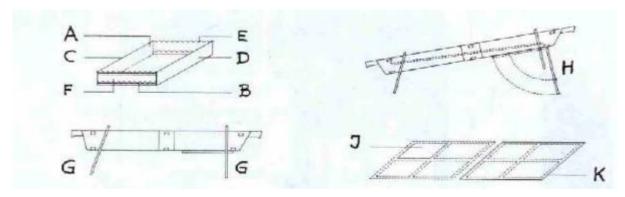
## Remarque

La composition de la spiruline peut être modifiée dans de larges proportions concernant le fer et les oligoéléments selon ce que les spécialistes préconisent. Certains disent par exemple qu'il y a trop de vitamine B12 dans la spiruline : l'apport de cobalt a donc été supprimé dans la formule. Par contre la dose de zinc a été renforcée.

#### **A27) PLANS DE SECHOIRS**

A27.1) Séchoir solaire modèle "Bangui" (version SS4-I.1996) par Michel-André THELER, CH-1958 Uvrier/Sion (Suisse), Tél. (41) 27 203 28 43

Plan simplifié (Monsieur Theler dispose des plans complets) :



#### Description sommaire de l'élément et principe de fonctionnement :

Caisse (dimensions 200 x 90 x 25 cm) constituée de :

- Une tôle ondulée A en polyester translucide (dessus)
- Une tôle ondulée B en aluminium (fond)
- Deux côtés C et D (contre-plaqué)
- Un portillon frontal de chargement E (moustiquaire)
- Une fenêtre F (moustiquaire) à l'extrêmité opposée

Cette caisse repose sur 4 pieds fixes G (à l'état de repos et lors du chargement) ou elle est inclinée afin d'optimiser l'exposition au soleil et l'effet thermosiphon (surélévation de l'arrière par un double pied escamotable H).

Séchage par circulation d'air chaud au travers de 8 cadres J en moustiquaire plastique (surface utile totale = 1,2 m²) sur lesquels est disposée la biomasse extrudée à sécher.

Chargement à l'aide de 2 châssis K (supportant chacun 4 cadres) introduits lorsque le portillon est ouvert et glissant à l'intérieur du caisson en prenant appui sur deux rails latéraux inclinés.

Productivité par bon ensoleillement : environ 300 g de spiruline sèche/jour.

# A27.2) Séchoir solaire à gaz (modèle "Davougon", version 1996) par Pierre ANCEL, F-95120 Ermont, Tél. 01 30 72 03 57

Cet appareil est construit à partir d'un fût en tôle de 200 litres (diamètre environ 50 cm, hauteur environ 80 cm) propre auquel trois pieds support on été soudés ou boulonnés. A 10 cm au dessus du fond des ouvertures colmatables, protégées par des morceaux de moustiquaire collés, sont aménagées pour permettre l'entrée d'air frais et la régulation de température.

A 20 cm au dessus du fond des cornières métalliques sont soudées ou vissées pour servir de support aux plateaux de séchage. Un couvercle amovible en bois ou en métal protège de la pluie et des insectes tout en permettant la sortie de l'air humide.

Les plateaux sont des cadres en bois munis d'une moustiquaire nylon. Ils sont emplilables (nombre maximum = 5)

Un réchaud à gaz butane (ou un brûleur récupéré sur une gazinière, monté sur support métallique soudé) permet de chauffer le fond du séchoir.

Le séchage peut aussi se faire directement par les gaz de combustion, convenablement dilués pour régler leur température (en jouant sur la hauteur des plateaux par rapport au brûleur), mais à deux conditions:

- brûleur de bonne qualité (ne charbonnant pas et donnant une flamme bleue)

- gaz de bonne qualité (le gaz butane courant en France convient)

# A27.3) Séchoir solaire à chauffage indirect, conception Claude VILLARD, 8 rue Stéphen Liégeard, F-83400- Hyères, Fax 04.94.57.03.34, <a href="mailto:spirulinaP@aol.com">spirulinaP@aol.com</a>

Le séchoir est constitué d'un caisson en tôle noire mate portant 5 plateaux amovible (cadre bois + moustiquaire nylon), muni sur un côté de portes permettant le chargement des plateaux. Le caisson est surélevé (pieds ou dénivellée du sol) de manière à pouvoir être alimenté en air chaud par thermosiphon à partir d'un capteur solaire à air à absorbeur en briques cuites, incliné et orienté convenablement selon la latitude du lieu. L'entrée d'air au capteur constitue le point bas du système et elle est protégée par une moustiquaire ; cette entrée doit être placée en un endroit autant que possible à l'abri des poussières et autres polluants, et bien évidemment hors d'eau.

Le caisson est surmonté d'une large cheminée également en tôle noire mate, surmontée d'un chapeau de protection contre la pluie et portant une moustiquaire de protection contre les insectes et feuilles mortes. Cette cheminée assure un tirage suffisant : pour cela sa hauteur doit être proche de celle du caisson

#### A28) PROJET SEMI-ARTISANAL DE 5 KG/JOUR

Il nous parait intéressant de résumer ici un projet de 5 kg de spiruline/jour que nous avons eu l'occasion de préparer à la demande d'une entreprise intéressée; il s'adresse à des groupes disposant d'électricité, d'eau courante et de CO2, et disposés à investir suffisamment pour vendre leur production sur le marché international. En climat chaud l'atelier peut fonctionner toute l'année et produire 1,5 tonnes/an ; en climat tempéré, la moitié. Il s'agit encore d'un procédé encore peu mécanisé, utilisant beaucoup de main d'œuvre.

#### A28.1) Bassins

4 bassins de 3 m x 50 m = 150 m², sous 2 serres de 8 m de large, à raison de 2 bassins par serre, avec une allée au centre de la serre entre les deux bassins. Agitation par roue à aubes à 4 ou 6 pales bois actionnée par motoréducteur de 250 W (un par bassin). Puisard de vidange à une extrêmité, vidange par gravité ou par pompe vide-cave à vortex. Serres aérables et ombrables partiellement, munies de moustiquaires aux deux bouts.

En variante la serre peut être remplacée par un habillage de film tendu sur chaque bassin, prenant appui sur un tube galvanisé reposant sur le muret central. Les bords du film sont enterrés. Dans cette variante l'accès au bassin est limité.

#### A28.2) Bâtiment

Toutes les manipulations de spiruline se font dans un bâtiment de 70 m² (pouvant servir de logement au personnel) dont le sous-sol est aménagé en salle de récolte. Au rez-de-chaussée se trouve le séchage-broyage-conditionnement du produit sec, ainsi qu'un petit laboratoire et le magasin de matières premières.

Le bâtiment est climatisé, avec ventilation par air filtré. Ceci facilite le port des vêtements de protection en vigueur dans les industries alimentaires.

La moitié du toit est construit pour pouvoir servir de capteur solaire sans vitrage (tôle peinte couleur tuiles) pour alimenter le séchoir solaire éventuel.

Un auvent abrite ventilateurs, séchoir, aspirateur, compresseur, cuve de carbonatation et cuve d'épuration.

#### A28.3) Récolte

Le dispositif de récolte est constitué d'une cuve de filtration en ciment, profonde de 60 cm, large de 80 cm et longue de 8 m., aux bords horizontaux garnis d'un joint de caoutchouc, sur lesquels reposent 4 cadres de filtration mobiles. Ces cadres ont des bords de 10 cm de haut et un filet tendu sur le fond. Les toiles de filtration sont simplement posées sur ces cadres. La culture à filtrer vient des bassins par gravité à travers un tamis. Chaque bassin a sa propre tuyauterie d'amenée, munie d'un compteur d'eau permettant de savoir exactement le volume soutiré par bassin. On peut accélérer la filtration en branchant un aspirateur sur la cuve.

Le filtrat est pompé par une pompe vide-cave commandée par flotteur, située dans un regard au point bas de la cuve. La tuyauterie de refoulement, comprenant un clapet anti-retour, traverse le côté de la cuve pour ne pas interférer avec l'étanchéité au vide. Le filtrat est envoyé dans la cuve de carbonatation.

La biomasse égouttée est essorée dans une presse située à proximité de la filtration. Le pressage se fait sur des plateaux à rebords de 2 cm, au fond percé (formant caillebotis). Ces plateaux sont mobiles. La biomasse est enveloppée dans une toile de coton forte doublée à l'intérieur d'une toile nylon fine, formant un "paquet" plat de 5 cm d'épaisseur maximum posé sur un des plateaux, en attendant d'être mise sous presse. Plusieurs plateaux peuvent être empilés pour pressage simultané. La presse peut être à vis ou à poids avec bras de levier.

La biomasse pressée est chargée dans une machine à faire les saucisses (un "poussoir" en inox, à manivelle ou motorisé) et mise en boyau plastique alimentaire de 50 mm de diamètre. Des noeuds en ficelle délimitent la longueur des saucisses qui correspond à celle du pistolet extrudeur (environ 35 cm). Les chapelets de saucisses sont mises au frigo au fur et à mesure de leur fabrication. Une partie de la production peut être sous forme de saucisses plus courtes pour la vente fraiche. En variante, le poussoir, fixé verticalement, sert d'extrudeur de grande dimension, les plateaux de séchage défilant dessous.

Le matériel et le sol sont lavés à l'eau après usage, l'eau étant recueillie dans un puisard au point bas du sous-sol et envoyée à l'égoût par un vide-cave à commande par flotteur.

#### A28.5) Nourriture de la spiruline

A la fin de la récolte on utilise la cuve de filtration pour transférer les sels (pesés au magasin situé juste au-dessus et transférés à la cuve par une chute en PVC) dans la cuve de carbonatation, en utilisant un jet d'eau et la pompe.

Cette cuve en ciment, de 4 m² de section et 3 m de profondeur, surélevée de 1 m. au dessus du sol, est reliée à un tube translucide permettant de connaître le niveau de liquide. Elle est aussi munie de bulleurs permettant l'injection de CO2 au fond. L'injection de CO2 (7 kg/jour) se fait de manière qu'aucune bulle ne sorte en surface (une échelle permet de surveiller cette surface). La durée

d'injection peut être de plusieurs heures. Le fait que le CO2 soit dissout en l'absence de lumière favorise le rendement d'absorption, proche de 100 %, en raison de l'absence de dégagement d'oxygène. Le bullage permet aussi de terminer la dissolution des sels et d'homogénéiser la solution.

On arrête la carbonatation quand le pH désiré est atteint (généralement 9,5), et on procède ensuite à la répartition de la solution dans les bassins au prorata du milieu soutiré pour la filtration. Le transfert se fait par gravité.

Une deuxième cuve de 12 m3, identique, sert de cuve d'épuration du filtrat par décantation (voir <u>Epuration</u>). Elle peut être exploitée en discontinu ou par lots quotidiens.

#### A28.6) Séchage

Pour l'extrusion on utilise un pistolet à colle en poches type Sika ("saucisson" en langage Sika Canada) de 600 ml de capacité, actionné par air comprimé. Le chargement du pistolet est instantané grâce au conditionnement de la biomasse en saucisses identiques aux poches de colle. En variante, comme dit en A28.3, le poussoir peut servir d'extrudeur de grande capacité.

La méthode la plus simple, et sans doute la moins chère en investissements, consiste à utiliser les séchoirs électriques Stoeckli; il en faut une douzaine pour sécher les 5 kg/jour, avec une fournée de nuit. Le séchage en étuve électrique demande un peu moins de travail parce que les plateaux sont plus grands. L'étuve peut être couplée à un capteur solaire (en toiture) ou à un déshumidificateur pour économiser l'électricité. Dans ce dernier cas, particulièrement adapté aux climats chauds et humides, le matériel ne doit pas être isolé thermiquement et l'air en circulation doit être refroidi en dessous de 35°C.

Les spaghetti secs sont versés dans un récipient intermédiaire de 100 litres à travers un entonnoir de dimension adaptée à celle des plateaux. Ils sont écrasés au pilon puis broyés et ensachés. Les emballages sont scellés sous vide par une machine du type utilisé pour emballer le fromage en Suisse.

#### A28.7) Personnel

Ce type de production semi-artisanale convient particulièrement à un couple résidant sur place; il n'y a alors normalement pas besoin de main d'oeuvre extérieure s'il est considéré comme acceptable de réduire la production en cas de maladie ou de congés.

Avec du personnel extérieur salarié, et pour assurer la production nominale tous les jours, il faut au minimum 3 personnes et de préférence 4.

#### A28.8) Prix de revient

Le programme de calcul (voir Annexe A31) ne s'applique pas à ce type de projet semi-artisanal.

On peut toutefois l'utiliser comme une première approche, à condition d'ajouter à l'investissement environ 8000 \$, ce qui porterait le prix de revient dans des conditions "africaines" à environ 15 \$/kg.

#### A28.9) Conditions humaines pour la réussite du projet

Quelles conditions humaines faut-il réunir pour qu'un petit projet de spiruline réussisse?

- 1) Il faut qu'une demande solvable de spiruline se soit exprimée dès avant l'initiation du projet, et que le projet ait des perspectives de développement ultérieur, suite à des tests nutritionnels publiés et reconnus, et éventuellement à une campagne de publicité.
- 2) Il faut que le partenaire local désire fortement le projet et se comporte en vrai "patron", disposant des pouvoirs et des moyens voulus ainsi que du temps matériel pour s'occuper du projet. Il serait bon qu'il visite un projet de spiruline voisin pour qu'il voit bien de quoi il s'agit. Il est très souhaitable qu'il exprime par écrit ses objectifs tant vis-à-vis de ses collaborateurs que de l'ONG soutenant le projet.
- 3) Il ne faut pas que ce "patron" soit muté ailleurs en cours de projet.
- 4) Il faut que le responsable technique à former soit capable de comprendre l'intérêt du projet et s'y implique fortement. Pour cela il doit être salarié et assuré correctement (pas "au noir") et travailler à plein temps sur le projet. Il ne doit pas être paresseux. Il doit mettre la main à la pâte, fabriquer ses outils de récolte, former lui-même son équipe et veiller à ce qu'il y ait un bon esprit d'équipe. Il doit être convaincu de l'intérêt à long terme de son nouveau métier d'algoculteur. Il doit aimer manger lui-même de la spiruline et accepter de goûter sa production pour en vérifier la qualité organoleptique. Il faut qu'il soit convaincu de la nécessité de travailler hygiéniquement. Il doit être au courant des prix.
- 5) Il est important que le responsable fasse lui-même quelques découvertes, ou ait l'impression d'en faire. Il faut donc lui laisser rapidement une certaine autonomie et des moyens (petit labo), tout en l'empêchant de sortir des limites prévues pour le projet (rester réaliste).
- 6) Il faut de bons moyens de communication avec l'ONG soutenant le projet (au moins fax), et la volonté de s'en servir, et ceci dans les deux sens (équipe locale-ONG et ONG-équipe locale).
- 7) Il faut que le projet soit raisonnablement protégé des vols et des insurrections.
- 8) Il faut interdire l'accès du projet à toute personne non autorisée, car l'expérience montre que les bassins sont souvent confondus avec des poubelles (exemples de Nanoro au Burkina et Dapaong au Togo).
- 9) Le personnel doit accepter de
  - venir très tôt le matin pour faire les récoltes,
  - assurer une permanence à midi si l'agitation n'est pas automatique.

Il est souhaitable qu'un membre de l'équipe habite sur place.

10) Il faut que des visiteurs de marque viennent voir le projet, mais pas trop souvent.

#### A29) CHECK- LIST POUR DEMARRAGE DE SPIRULINE SUR NOUVEAU SITE

(N.B. Le maximum devra être trouvé sur place ; le reste devra être apporté)

Film PE de serre épaisseur 0,2 mm (pour bassin extensible) Récipients genre "Tupperware" (pour test d'humidité et stockage de biomasse fraîche) Bassines (blanches de préférence) dont une à bords droits Seau plastique (blanc de préférence et gradué) Balai plastique

Jarre graduée plastique de 1 litre

Etiquettes autocollantes

Papier filtre type filtre à café Mellita N°4

Entonnoir plastique

Pelle plastique à bord droit

Secchi

Sachets de sels pour 8 litres de milieu de culture initial

Kit d'analyse d'eau Merck (nitrate, sulfate, ammonium, calcium, dureté)

Balances électroniques 100 g (à 0,1 g) et 3 kg

Petits récipients plastique pour pesées

Seringues, compte-gouttes

Fonds d'évier plastique (pour presse)

Papier absorbant type Sopalin

Thermomètre (0 - 100°C), densimètre (1000 - 1050 g/l)

PHmètre avec une électrode de rechange

Etalons de pH 7 et 10 en gélules

Hygromètre digital

Piles de rechange

Pissette

Compresseur et pompes d'aquarium

Pompe vide-cave

Bidons plastique pour cultures labo, lampe de chevet 40 Watt

Tube souple diamètre 4 mm pour air + té avec robinets

Tube souple diamètre 10 mm pour pompe

Tuyau d'arrosage avec embout à jet réglable

Programmateur et prises multiples

Mètre de poche

Loupe (x25) ou microscope (x100)

Cystes (oeufs) d'Artémias et miniaquarium pour tests de toxicité

Tissus de filtration 30 μ en polyester

Tissus 315 μ en polyester

Grille plastique pour cadres de filtration

Extrudeuse

Séchoir électrique ou de quoi construire un séchoir solaire (moustiquaire, film plastique noir, ventilateur)

Sachets thermoscellables pour emballage spiruline

Kit de réparation de bâches plastique

Agrafeuse et agrafes

Outils de base (scie, tournevis, marteau, ciseaux) + clous, vis

Lampe de poche

Souche de spiruline 100 % spiralée ou ondulée

Manuel de culture artisanale (livre et diskette)

Bicarbonate de sodium

Sel de cuisine

Urée

Nitrate soluble

Phosphate soluble

Sulfate de magnésium

Sulfate de potassium

Sel de calcium soluble ou chaux Oligoéléments Ferfol ou Fetrilon (fer chélaté) ou acide citrique ou jus de citron Acide chlorhydrique concentré Soude ou potasse caustique ou carbonate de soude (ou sinon cendre) Eau potable ou filtrée

#### A31) Adoucissement de l'eau trop dure

Lorsque l'eau contient trop de Ca ou Mg par rapport aux besoins de la spiruline, on peut soit ajouter au bassin plus de phosphate (qui va précipiter avec le Ca ou le Mg), soit passer l'eau sur un adoucisseur classique à résine échangeuse d'ion (mais on rejettera de l'eau contenant des chlorures, donc pollution), soit traiter l'eau dans une cuve avec des réactifs qui vont précipiter des carbonates insolubles (et non polluants pour l'environnement).

Pour ce dernier cas, on a le choix des réactifs :

```
1) à la soude :
Ca (HCO3)2 + NaOH = CaCO3 + NaHCO3
```

2) au carbonate:

Ca(HCO3)2 + Na2CO3 = CaCO3 + 2 NaHCO3

3) à la chaux :

$$Ca(HCO3)2 + Ca(OH)2 = 2 CaCO3 + 2 H2O$$

A vous de choisir, sachant que si le Ca est sous forme chlorure, seul le carbonate sera actif.

NB 1 : Le Mg suit le même sort.

NB 2 : Il est fortement déconseillé de stocker l'eau épurée à la lumière car il y a risque de développement de microorganismes toxiques.

#### **Càlculs**

L'apartat de "CALCULS" no s'ha inclòs en la traducció. Podeu trobar-ho en la versió original o bé en una versió en castellà al document: *Diseño de módulos de producción a pequeña escala de Spirulina* Concretament a l'Annex 1. "Cálculo de la productivitat". Enllaç