

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

ALOUACH Hasna

et

BOUMEDIENE Abderrahmene

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE

Spécialité : Ressources Halieutique

THÈME

**Effet antioxydant et antifongique de la spiruline
« *Arthrospira platensis* »**

Soutenue publiquement le 27/06/2024

DEVANT LE JURY D'EXAMEN COMPOSÉ DE

Présidente : Dr. BORSALI Sofia M.C.A U. Mostaganem

Encadreur : Pr. BELHAKEM Fadela Pr.U. Mostaganem

Co-Encadreur: Dr. BENZIDANE Dehiba M.C.A U. Mostaganem

Examineur : Dr. BEKADA Djamel Eddine M.C.A U. Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadrante, Pr. BELHAKEM F., et notre co-encadrante, Dr. BENZIDANE D., qui ont accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous les remercions pour leur patience, leur aide très précieuse et leurs corrections sérieuses.

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

Nous souhaitons ensuite adresser nos remerciements les plus sincères à Mme HAMED Djahira et Mme TAHLAYTI Amina, responsables du laboratoire LMBAFS, pour leur aide estimable.

Nous n'oublions pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, un agréable merci à tous ceux que je ne peux pas tous citer, qui, à un moment ou un autre, m'ont prodigué des conseils scientifiques, fourni une aide matérielle et technique, ou tout simplement apporté un soutien humain.

Un grand merci à tous !

Dédicace

A MA TRÈS CHÈRE MÈRE

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A tous mes professeurs au long de mon parcours universitaire.

Sans oublier mon binôme avec qui j'ai élaboré mon projet de fin d'étude et tous mes amis.

À tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de l'humanité.

Je dédie cet humble travail.

Alouach Hasna.

Dédicace

A l'aide d'ALLAH, le tout puissant,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie : A MES TRES CHERS PARENTS Aucune phrase, aucun mot ne saurait exprimer à sa juste valeur le respect et l'amour que je vous porté.

Vous m'avez entouré d'une grande affection, et vous avez été toujours pour moi un grand support dans mes moments les plus difficiles.

Sans vos précieux conseils, vos prières, votre générosité et votre dévouement, je n'aurai pu surmonter le stress de ces longues années d'étude.

Vous êtes pour moi l'exemple de droiture, de lucidité et de persévérance. A travers ce modeste travail, je vous remercie et prie dieu le tout puissant qu'il vous garde en bonne santé et vous procure une longue vie que je puisse vous combler à mon tour.

A mon frère et mes sœurs et A toute ma famille BOUMEDIENE et ZECHE et REZZAG tous mes enseignants.

A mes chères amis et collègues Bilal, Mehdi, Brahim, Chihab, Youness, El-KAHWIYIN ;), et tous les amis du HCY, et tous mes collègues et les amis du domaine aquaculture et du notre projet KAMAZOLLA l'équipe de Tiaret, et du Ain Temouchent, et tous ceux que je n'ai pas mentionnés des 58 wilayas. A mes frères avec qui j'ai passé 5 ans dans la cité universitaire, Madjid, Saber, Abdellah, Jilali, Alaa, Marouane, Hakim, Oussama, Tiza.....

Sans oublier mon binôme du master 2 avec qui j'ai élaboré mon projet de fin d'étude.

Je tiens à remercier tous mes amis, en les nommant individuellement ainsi que leur importance dans ma vie.

En fin à tous ceux qui m'apprécient à ma juste valeur

BOUMEDIENE Abderrahmene



Résumé

L'objectif de l'étude est de vérifier les propriétés antioxydantes de la spiruline et de tester son activité antifongique contre des souches pathogènes pour évaluer son potentiel en tant qu'agent antifongique.

Le matériel utilisé dans l'étude sur la spiruline comprenait des souches fongiques pathogènes provenant du laboratoire LMBAFS de l'Université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem et la spiruline *Arthrospira platensis* de la ferme Al Kiram. Les méthodes expérimentales comprenaient la préparation de l'extrait méthanolique de la spiruline, le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux par des méthodes colorimétriques, la mesure du pouvoir antioxydant à l'aide du test DPPH, et l'évaluation de l'activité antifongique par la méthode de diffusion en puits (AWDT).

Les résultats de l'étude sur la spiruline ont montré que cette microalgue possède des propriétés antioxydantes et antifongiques. Les analyses ont révélé une teneur élevée en flavonoïdes totaux par rapport aux polyphénols totaux, ainsi qu'un fort pouvoir antiradicalaire. L'activité antifongique a été observée contre la levure *C. albicans*, mais pas contre *Aspergillus brasiliensis*. Ces résultats soulignent les multiples bénéfices de la spiruline en tant qu'agent antioxydant et antifongique, renforçant son intérêt dans divers domaines tels que la nutrition et la santé.

En résumé, l'étude sur la spiruline a confirmé ses propriétés antioxydantes et antifongiques, mettant en lumière son potentiel en tant que superaliment bénéfique pour la santé. Ces résultats renforcent l'intérêt de la spiruline comme complément alimentaire et agent thérapeutique naturel.

Les mots clés : Spiruline, microalgue, antioxydante, antifongique, *ArthrospiraPlatensis*.

Abstract

The objective of the study is to verify the antioxidant properties of spirulina and to test its antifungal activity against pathogenic strains to evaluate its potential as an antifungal agent.

The materials used in the spirulina study included pathogenic fungal strains from the LMBAFS laboratory at Abdelhamid Ibn Badis University in Mostaganem and *Arthrospira Platensis* spirulina from the Al Kiram farm. The experimental methods included the preparation of methanol extract of spirulina, the determination of total polyphenols and total flavonoids by colorimetric methods, the measurement of antioxidant power using the DPPH test, and the evaluation of antifungal activity by the AWDT well diffusion method.

The results and discussions of the spirulina study showed that this microalgae has antioxidant and antifungal properties. Analyses revealed a high content of total flavonoids compared to total polyphenols, as well as strong radical scavenging power. Antifungal activity was observed against the yeast *C. albicans*, but not against *Aspergillus brasiliensis*. These results highlight the multiple benefits of spirulina as an antioxidant, antifungal, and antimicrobial agent, reinforcing its interest in various fields such as nutrition and health.

In summary, the study on spirulina confirmed its antioxidant and antifungal properties, highlighting its potential as a beneficial superfood for health. These results strengthen the interest in spirulina as a dietary supplement and natural therapeutic agent.

Keywords: Spirulina, microalgae, antioxidant, antifungal, *Arthrospira Platensis*.

المُلخَص

الهدف من الدراسة هو التحقق من الخصائص المضادة للأكسدة للسيربولينا واختبار نشاطها المضاد للفطريات ضد سلالات ممرضة لتقييم إمكاناتها كعامل مضاد للفطريات.

في LMBAFS المواد المستخدمة في دراسة السيربولينا شملت سلالات فطرية ممرضة من مختبر من مزرعة الكرام. *ArthrospiraPlatensis* جامعة عبد الحميد ابن باديس في مستغانم وسيربولينا تضمنت الطرق التجريبية تحضير مستخلص الميثانول من السيربولينا، وتحديد إجمالي البوليفينولات والفلافونويدات الكلية بواسطة طرق اللون، وقياس القدرة المضادة للأكسدة باستخدام اختبار تم. AWDT ، وتقييم النشاط المضاد للفطريات بواسطة طريقة انتشار الأبار DPPH

أظهرت نتائج ومناقشات دراسة السيربولينا أن هذا الطحالب الدقيقة لها خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للفطريات. كشفت التحاليل عن محتوى عالي من الفلافونويدات الكلية مقارنة بالبوليفينولات C. الكلية، فضلاً عن قوة عالية في مكافحة الجذور الحرة. لوحظ نشاط مضاد للفطريات ضد الخميرة تسلط هذه النتائج الضوء على الفوائد. *Aspergillus brasiliensis* ، ولكن ليس ضد *albicans* المتعددة للسيربولينا كعامل مضاد للأكسدة ومضاد للفطريات ومضاد للميكروبات، مما يعزز اهتمامها في مجالات متعددة مثل التغذية والصحة

في الختام، أكدت الدراسة على السيربولينا خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للفطريات، مما يبرز إمكاناتها كطعام فائق الفائدة للصحة. تعزز هذه النتائج الاهتمام بالسيربولينا كمكمل غذائي وعامل علاجي طبيعي.

الكلمات الرئيسية

سيربولينا، طحالب دقيقة، مضادة للأكسدة، مضادة للفطريات، *ArthrospiraPlatensis*

Liste des abréviations

LMBAFS : Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé.

ATCC: American Type Culture Collection.

PDA: Potato Dextrose Agar.

µg: Microgramme.

mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

H3PW12O4: Acide Phosphotungstique.

H3PMO12O40 : Acide Phosphomolybdique.

EA : Équivalents d'Acide Gallique.

AlCl3 : Trichlorure d'Aluminium.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

UFC : Unités Formant Colonies

Liste des figures

Figure 2 : frise chronologique (Mollo & Noury, 2013).....	3
Figure 3 : Différents aspects microscopiques de la spiruline (Vicente,2012)	8
Figure 4 : Cycle biologique de la spiruline modifié (Charpy et al, 2008).....	9
Figure 5 : Echantillon de la spiruline AL kiram (photo prise par nous-mêmes).....	18
Figure 6 : Les Différents étapes réalisées dans L'expérimentation.	19
Figure 7 :Les Différents étapes réalisées dans L'expérimentât	20
Figure 8 : Dosage de Polyphénols totaux (Lit et al., 2007)	22
Figure 9 : Incubation, visage de couleur et lecture à l'aide d'un spectromètre (photos prises par nous-mêmes).....	23
Figure 10 : Dosage de Flavonoïdes totaux (Ardestani et Yazdanparast, 2007).	24
Figure 11 : Structure Chimique de radical libre et non radical (Molyneux, 2004).	25
Figure 12 : Mécanisme réactionnel du test DPPH (Molyneux, 2004).	26
Figure 13 : Protocole de préparation de l'enchantions de test DPPH (Benariba et al., 2013).	27
Figure 14 : Méthode de diffusion en puits (photos prises par nous-mêmes).	28
Figure 15 : Rendement d'extraction de la spiruline.	29
Figure 16 : courbe étalon de l'acide gallique	30
Figure 17 : Courbe étalon Quercitin	32
Figure 18 : Histogramme des teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut de la spiruline.	33
Figure 19 : Effet anti radicalaire de l'acide ascorbique (DPPH).....	34
Figure 20 : Effet anti radicalaire d'extraits méthanol de la spiruline (DPPH).....	35
Figure 21 : Pouvoir antifongique d'extrait brut du la spiruline par la méthode de diffusion en puis vis-à-vis C. albicans ATCC 1023 et Aspergillus brasiliensis ATCC 16404.....	36
Figure 22 :On a obtenu le diamètre d'inhibition 15 mm du C. albicans ATCC 1023 par contre aucun résultat de Aspergillusb rasiliensis ATCC 16404	37

Liste des tableaux

Tableau 1 : Distribution géographique naturelle de <i>Spirulina platensis</i> (Sguera et références citées, 2008).	10
Tableau 2: la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.	17
Tableau 3: Teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut de la spiruline.....	32

Sommaire :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I	
Synthèse Bibliographique	
. Généralités sur la spiruline	3
I.1 Découverte : une bactérie vieille comme le monde ?	3
I.2 Histoire de la spiruline : entre légende et réalité	4
I.3. Classification taxonomique	7
I.4. Morphologie	7
I.5. Reproduction	8
I.6. Répartition géographique	9
I.7. Principales applications de la spiruline	11
I.7.1. Alimentation humaine	11
I.7.2. Alimentation animale	11
I.7.3. Cosmétique	12
I.7.4. Thérapeutique	12
I.8. Activités biologiques de la spiruline	13
I.8.1. Activité anti-oxydante	13
I.8.2. Activité antimicrobienne	13
I.8.3. Activité antibactérienne	13
I.8.4. Activité antivirale	14
I.8.5. Activité anti-inflammatoire	14
I.8.6. Activités anti-toxicité	15
I.8.7. Activité anticancéreuse	15

CHAPITRE II

Matériels et Méthode

II.1. Matériels	17
II.1.1. Matériel biologique	17
II.1.2. Origine des souches	17
II.1.3. Matériel végétal	17
II.2. Méthodes	18
II.2.1. Préparation de l'extrait méthanol de la spiruline	18
II.2.2. Dosage des Polyphénols Totaux	18
II.2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux	23
II.2.4. Mesure du pouvoir antioxydant	24
II.2.5. Activité antifongique	27
II.2.5.1. Réactivation de souches pathogènes	27
II.2.5.2. Les souches pathogènes utilisées	27
II.2.5.3. Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes	27
II.2.5.4. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)	28

CHAPITRE III

Résultats et Discussion

III.1. Rendement d'extraction de la spiruline	29
III.2. Dosage des Composés Phénolique	30
III.2.1 Taux de Polyphénols totaux dans l'extrait de la spiruline	30
III.2.2 Taux de Flavonoïde totaux dans l'extrait de la spiruline	31
III.2.3. Évaluation du pouvoir antioxydant L'activité antioxydante de l'extrait la spiruline est évaluée par le test de réduction du radicale libre DPPH	33
III.3.1 Test de réduction du radical libre le DPPH	33
III.3.2 Evaluation de l'IC50	34
III.4. Pourvoir de l'activité antimicrobienne de la spiruline	35
III.5. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)	36
Conclusion	38
Références bibliographiques	39

INTRODUCTION

Introduction

Environ 25 000 espèces d'algues sont actuellement connues sur Terre. La cyanobactérie *Arthrospira platensis*, plus connue sous le nom de spiruline, est une algue bleue microscopique qui est apparue avec les premiers êtres vivants il y a environ 3,5 milliards d'années et qui est considérée comme l'aliment naturel le plus complet de notre planète (Cruchot, 2008).

Cette microalgue est considérée comme une ressource alimentaire non conventionnelle pouvant contenir jusqu'à 70 % de protéines. Elle est riche en sels minéraux, en oligo-éléments, et en nombreuses vitamines (B1, B2, B12, E) (Sall et *al.*, 1999). En plus de ses bienfaits nutritionnels reconnus, la spiruline suscite actuellement un intérêt croissant de la part de la communauté scientifique internationale en raison de ses possibles applications thérapeutiques. En effet, cette microalgue présente un potentiel important, notamment grâce à sa principale pigmentation, la phycocyanine, qui lui confère sa couleur bleu-vert caractéristique. Des études ont démontré des effets bénéfiques sur le système immunitaire, le cancer, le VIH, ainsi que des propriétés anti-âge, hépato protectrices et anti-inflammatoires. La spiruline semble donc offrir un large éventail de bienfaits potentiels.

La culture de la spiruline est en plein essor dans les régions où elle pousse naturellement, notamment en Afrique, en Asie et en Amérique, ainsi que dans des exploitations agricoles spécialement dédiées à sa production à grande échelle. En Europe, elle est cultivée sous serres ou dans des photobioréacteurs (Jourdan, 1999).

En Algérie, entre le 18 et le 25 avril 2004, le premier mini-colloque sur la spiruline s'est tenu à Tamanrasset. Des scientifiques et chercheurs français spécialisés dans la culture et les utilisations de la spiruline ont été invités par KaddaHiri pour informer les représentants des administrations locales, des services de santé, de l'agriculture et de l'enseignement sur l'importance du développement de l'algoculture dans la région, en vue d'une expansion à l'échelle nationale (Hiri, 2004).

La principale source d'énergie pour la spiruline est la lumière solaire, et le milieu de culture repose sur le natron. Les régions désertiques, riches en natron comme le Sahara, semblent donc particulièrement propices à la culture de la spiruline (Fox, 2004). Un autre acteur important dans la culture et la production de cette microalgue est M. Saggai à Ouargla, qui maîtrise parfaitement les techniques nécessaires.

Cette étude a pour objectif de vérifier si la spiruline possède des propriétés antioxydantes en protégeant les cellules contre les dommages oxydatifs et de tester l'activité antifongique de la spiruline contre des souches fongiques pathogènes pour déterminer son potentiel en tant qu'agent antifongique.

Notre mémoire est composé de trois parties :

- La première partie est une revue bibliographique visant à approfondir les connaissances scientifiques sur la spiruline.
- Le deuxième chapitre concerne la présentation du matériel et des méthodes expérimentales qui ont été utilisés pour mener à bien cette étude.
- La troisième partie est dédiée à la présentation de nos résultats expérimentaux et à leur discussion.

CHAPITRE I
Synthèse Bibliographique

I. GÉNÉRALITÉS SUR LA SPIRULINE

I.1 Découverte : une bactérie vieille comme le monde ?

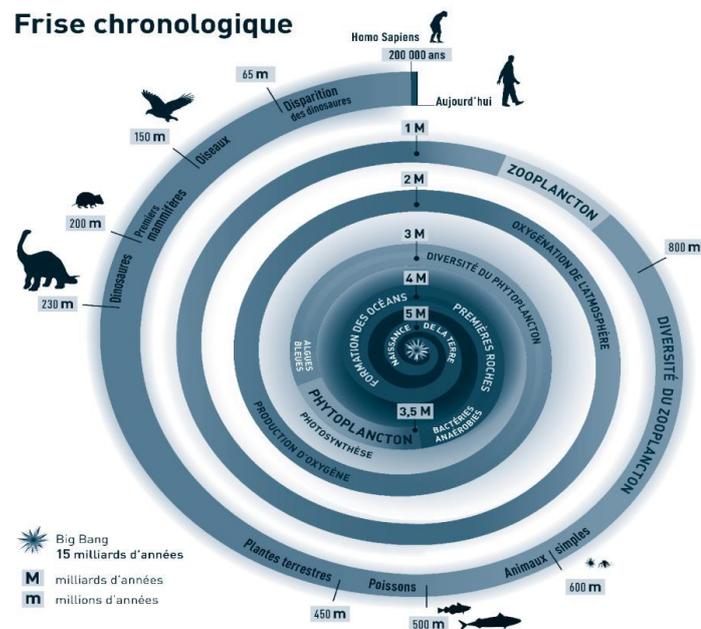


Figure 1 : frise chronologique (Mollo & Noury, 2013)

La spiruline est une cyanobactérie spiralée de couleur bleu-vert photoautotrophe. C'est un organisme procaryote qui partage avec les plantes la capacité d'effectuer de la photosynthèse. À partir de composés minéraux, d'eau, et de l'énergie lumineuse captée grâce à leur chlorophylle, elles transforment le gaz carbonique et dégagent l'oxygène (WHO, 1999).

Il est admis par la communauté scientifique que l'apparition des cyanobactéries date de 3,5 milliards d'années, constituant ainsi les plus anciennes formes de vie sur terre.

Toutefois, de récentes études, combinant des données paléo biologiques et des comparaisons phylogénétiques, datent l'apparition de ces dernières à la fin de l'archéen, il y a 2,7 milliards d'années. Ce qui fait des cyanobactéries, les plus anciennes formes de vie sur terre (Bernard, 2014).

À la période précambrienne (2,5- 0,5 milliards d'années), les cyanobactéries ont constitué l'essentiel de la biomasse et ont alors permis un accroissement du taux d'oxygène et une diminution du taux de CO₂ de l'atmosphère terrestre. Un héritage vivant de cette « Ère des cyanobactéries » est constitué par les stromatolithes en Australie (Bernard, 2014).

Elles constituent aussi le socle de la vie dans les océans puisqu'elles sont à l'origine de la grande diversité du phytoplancton.

Elles résistent aux conditions les plus extrêmes notamment grâce à leur capacité à se rétracter en un agrégat de plusieurs milliers de filaments lorsque les conditions de température ou d'hydratation leurs sont défavorables, elles conservent au centre de leurs capsules un minimum d'humidité nécessaire à leur survie dans l'attente d'une amélioration des conditions extérieures : on parle alors d'état de dormance (Lavoie et *al.*, 2007 ; Vidalo, 2008).

Elles existent toujours de nos jours et jouent un rôle dans le maintien de l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène (Mollo & Noury, 2013).

I.2 Histoire de la spiruline : entre légende et réalité

Les algues sont au menu des humains depuis la nuit des temps. Elles sont un aliment de base en Chine et au Japon dès la préhistoire. En Europe pendant l'antiquité, les algues sont utilisées comme aliments pour le bétail, colorants et médicaments contre les vers parasites (Vidalo, 2008).

Il existe près de 1500 espèces « d'algues bleues » dont 36 comestibles. Parmi elles, la spiruline est consommée des deux côtés de l'atlantique par les Kanembous du Tchad et par les Aztèques depuis des temps immémoriaux.

- *Au XV^{ème} siècle*

Sur les rives du lac Tchad, le vent pousse les algues vers le rivage où elles forment un épais tapis de verdure récolté par les Kanembous. Récoltée dans des pots d'argiles, la spiruline est égouttée à travers des sacs de tissus puis séchée au soleil. Par la suite, elle est transformée en galette baptisée le dihé et est vendue sur le marché local. Le dihé est émietté dans une sauce composée de tomates, de piments, d'épices et accompagne le mil pilé cuit à l'eau (Gantar&Svirčev, 2008).

La légende raconte que les femmes enceintes consommaient abondamment le dihé, persuadées que la couleur sombre du dihé protégerait leurs fœtus du mauvais œil (Ciferri, 1983).

- *Au XVI^{ème} siècle*

À leur arrivée dans la vallée du Mexique, les conquistadors espagnols découvrent « une nouvelle nourriture » que les Aztèques appelaient le tecuitlat signifiant « excrément de pierre » parce qu'ils pensaient qu'il était produit par les minéraux. Récolté à l'aide de filets très fins à la surface du lac Texcoco, il était ensuite transformé en gâteaux d'une couleur bleu-vert (Habib et *al.*, 2008).

- L'histoire relate aussi que l'empereur Moctezuma II raffolait de poisson frais. Or ce dernier vivait dans un palais situé à 200 m d'altitude et à 300 km de la mer. À une époque où il n'y avait ni chevaux, ni glace pour conserver les aliments puisque le climat était tropical, le transport de cette denrée périssable était confié à d'athlétiques coursiers qui se relayaient pour apporter du poisson frais à leur empereur grâce à la consommation de tecuitlat (Vidalo, 2008).

- À la fin du XVIème siècle le tecuitlat tombera dans l'oubli probablement après l'assèchement des lacs au profit des développements urbains et agricoles. Le lac Texcoco représente de nos jours le seul vestige de cette époque.

- *De 1844 à 1959*

En 1844, près de Montevideo, deux chercheurs, Wittrock et Nordsedt, signalent la présence d'une « microalgue » bleu-vert hélicoïdale baptisée *Spirulina jenniferi platensis*.

C'est en 1852, que sera publié le premier rapport taxonomique rédigé par Stizenberger qui lui donne le nom d'*Arthrospira* en raison de sa forme en hélice et de sa structure multicellulaire.

Puis en 1940 pendant la seconde guerre mondiale, Y. Creach, une pharmacienne des troupes coloniales Françaises stationnées à Fort Lamy, aujourd'hui Ndjamena, découvre les galettes d'algues séchées appelées dihé, et s'y intéresse de près. Elle en rapporte quelques échantillons pour les analyser et les identifier (Vidalo, 2008).

En France le botaniste Dangeard rapporte l'expérience d'Y. Creach, et fait une présentation à la société Linnéenne de Bordeaux en 1940 en mentionnant pour la première fois l'utilisation de la spiruline en alimentation humaine. Publié pendant Laguerre, son compte rendu passera inaperçu (Paniagua-Michel et *al.*, 1993).

En 1959 l'anthropologue Max-Yves Brandily publie dans science et avenir un article sur ces gâteaux d'algues pleins de sable, intitulé : « depuis des lustres une tribu primitive du

Tchad exploite la nourriture de l'an 2000 » (Vidalo, 2008).

- Dans les années 1960 (Cruchot et références citées, 2008)

- Le botaniste Belge Jean Leonard remonte la filière de la galette verte jusque sur les rives du lac Tchad. En 1964, Leonard et son confrère P. Compère analysent le dihé et déterminent la spiruline confirmant ainsi le rapport de Dangeard.

C'est ainsi que l'Institut Français du Pétrole (IFP), par l'intermédiaire de l'un de ses membres G. Clément, a lancé des études sur cette fameuse « algue ». Grâce à cet institut, la France a pu devenir pionnière en ce qui concerne l'étude de la spiruline.

La spiruline sera redécouverte accidentellement par un ingénieur Français Hubert Durand Chastel qui arrive au Mexique pour prendre la direction de Sosa Texcoco, une unité de production de carbonate de soude. La matière première, la saumure, est extraite des sédiments du lac Texcoco. L'un des problèmes de l'exploitation est une matière organique qui perturbe la cristallisation des carbonates. Considérée comme une nuisance, elle est brûlée avec les ordures. C'est en assistant en 1967 à une conférence sur la spiruline au cours d'un congrès sur le pétrole à Mexico, et suite aux publications de Max Yves Brandily, qu'il fait le rapprochement avec cette substance qui le gênait dans sa production. Il débutera la culture d'*Arthrospira maxima* en 1968 et sa commercialisation se fera en 1976.

- Qui sont les pionniers de la recherche sur la spiruline ?

-En 1970, l'Américain Ripley FOX docteur en microbiologie voit en la spiruline un complément nutritionnel par excellence, et la solution au problème de la faim dans le monde. Il décide d'en faire un outil politique humanitaire. En 1971, il fonde une association ACMA (Association pour Combattre la Malnutrition par l'Algoculture) qui développe le concept de ferme de spiruline (Fox, 1999).

-Parallèlement, en 1970, un rapport du Dr Hiroshi Nakamura (microbiologiste président du comité de développement de la spiruline au Japon) indique toutes les caractéristiques de la spiruline. Ce scientifique japonais a réuni les études concernant « l'algue » qui avait été utilisée comme nourriture pendant le blocus Américain, durant la seconde guerre mondiale. Son rapport sera publié en 1978, dans l'ouvrage « Food from Sunlight » du Dr Christopher (Cruchot et références citées, 2008).

-En 1974, la spiruline est déclarée « aliment de santé supérieur du XXIème siècle » lors de la conférence internationale sur les protéines microscopiques et la conférence alimentaire des Nations unies (Vidal, 2008).

- L'industrialisation de la culture de spiruline

La première expérience industrielle a lieu au Mexique avec Hubert Durand Chastel par le biais de la société Sosa Texcoco. La spiruline sèche arrivera sur les étagères des magasins de santé Américains en 1979 (Vidalo, 2008).

L'usine du Mexique fermera ses portes mais la relève sera assurée par l'entreprise EarthriseSpirulinaCompany aujourd'hui leader mondial sur le marché de la spiruline (Vidalo, 2008).

En 1984, c'est au tour de la Chine de se lancer dans la production de spiruline à l'état naturel (dans le lac Chenghai) (Fox, 1999).

D'autres exploitations s'ensuivront un peu partout dans le monde. Grace aux progrès faits sur les techniques de culture, l'Europe est entrée dans la course et les productions à petite échelle se développent dans les pays en voie de développement (Vidalo, 2008).

I.3. Classification taxonomique

Plusieurs écrivains ont étudié la classification systématique de la spiruline. À l'origine considérée comme une algue, elle a été finalement désignée comme cyanobactérie et a été acceptée pour figurer dans le « Bergey's Manual of Determinative Bacteriology » (Goulambasse, 2018).

Sur le plan taxonomique, la spiruline a été considérée comme une espèce par les systématiciens au :

- Règne : *Monera*
- Groupe ou Sous Règne : *Prokaryotes*
- Embranchement : *Cyanophyta*
- Classe : *Cyanophyceae*
- Ordre : *Nostocales* (ou *Oscillatoriales*)
- Famille : *Oscillatoriaceae*
- Genre : *Oscillatoria*
- Espèces : *Spirulina* ou *Arthrospira* (Charpy et al., 2008).

Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulinaplantensis* (*S. plantensis*), originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* (*S. Maxima*) originaire d'Amérique centrale (Sguera, 2008).

I.4. Morphologie :

La Spiruline mesure en moyenne 250 μm lorsqu'elle est composée de 7 spires. Le filament mobile (de 10 à 12 μm de diamètre) est constitué de filaments non ramifiés et enroulés en spirales, habituellement en 6 ou 7 spires, qui ressemblent à un petit ressort à boudin, d'où son nom de « Spiruline » (Geitler, 1932 en Jarisoa, 2005).

En particulier, la Spiruline se compose de cellules transparentes qui sont empilées ensemble, formant ainsi un filament ou un trichome. Quand on regarde au-dessus de la spirale, le trichome s'enroule sur lui-même dans le sens des aiguilles d'une montre. Cependant, l'orientation de l'hélice serait influencée par des facteurs environnementaux tels que la température (Muhling et *al.*, 2003, en Jarisoa, 2005).

Les filaments de *Spirulina* sont mobiles, se déplaçant fréquemment en vrilles à plus de 5 μm par seconde. Cette mobilité lui permet de se protéger contre les expositions trop intenses au soleil (Fox, 1999).

Se présentant généralement sous différentes formes, "spirales", "ondulées", et "droites" (Vicente, 2012). Cette particularité de forme est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (Charpy et *al.*, 2008) (**Figure 02**).

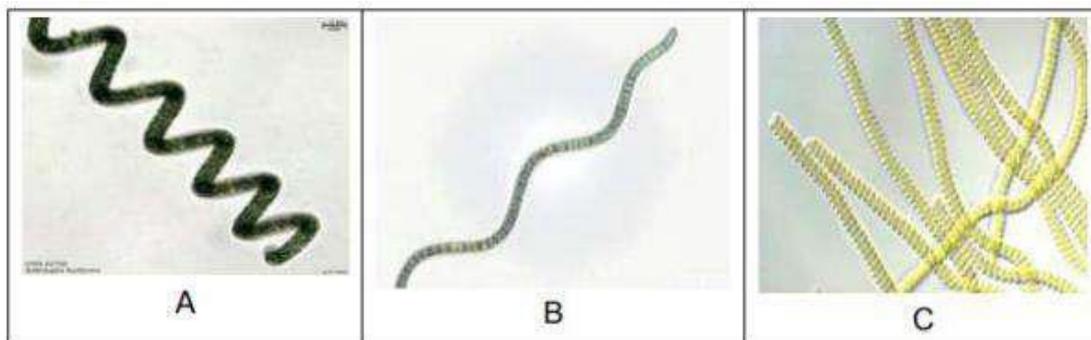


Figure 2 : Différents aspects microscopiques de la spiruline (Vicente,2012)

(A) forme spiralee, (B) forme ondulée, et (C) forme droite

C'est une procaryote vrai, Elle est de type Gram négative. Malgré son système énergétique photosynthétique (Vicente, 2008).

I.5. Reproduction :

La spiruline se reproduit de manière végétative, c'est-à-dire par bipartition asexuée. La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours (Dargent, 2009). Il s'agit donc d'une scission simple utilisant la segmentation des filaments, qui se déroule en différentes étapes :

- Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécruries, des cellules ayant un aspect concave.
- Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécruries aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies. Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité (**Figure 04**) (Manet, 2016).

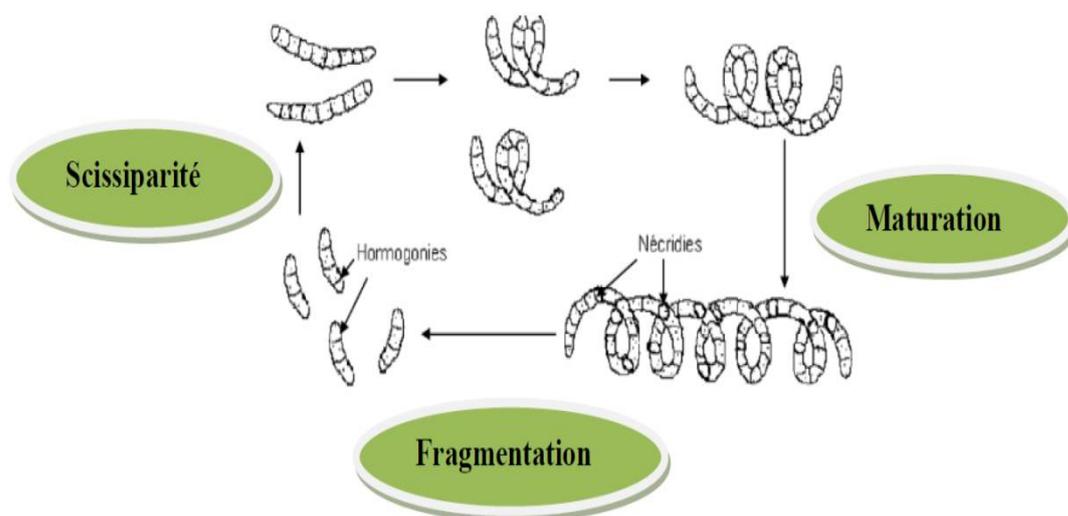


Figure 3 : Cycle biologique de la spiruline modifié (Charpy et al, 2008).

I.6. Répartition géographique

Arthrospira est un genre de cyanobactéries qui se distingue des autres par son milieu naturel. Effectivement, les eaux douces et chaudes, alcalines (pH 8 - 11,5) et minéralisées (nitrate, phosphates, fer) contiennent principalement du carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou du bicarbonate de sodium (NaHCO_3), ce qui exclut la plupart des autres micro-organismes. Elle

se rencontre plus fréquemment dans les eaux saumâtres et dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales.

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. On la retrouve ainsi dans les lacs alcalins en Afrique, en Amérique latine, et en Asie du sud. Il s'agit certes d'un organisme cosmopolite mais il est beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (Charpy et *al.*, 2008). Le tableau ci-dessous regroupe quelques sites où la spiruline est retrouvée naturellement :

Tableau 1 : Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis* (Sguera et références citées, 2008).

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

Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
EUROPE	
Hongrie	<i>non précisé</i>
France	Camargue
AUTRES SITES POSSIBLES	
Partout où vivent le flamant nain, <i>Phoeniconaias minor</i> (Afrique et Asie) et le flamant de James, <i>Phoenicoparrus jamesi</i> (Amérique du sud)	
Ethiopie	Lac Abiata
Kenya	Lac Rodolphe ; lac Hannington
Tanzanie	Lac Manyara ; lac Rukua
Zambie	Lac Mweru
Botswana	Makgadigka Salt Pans
Namibie	Etosha Salt Pan
Afrique du Sud	Etat libre d'Orange, près de Vaaldam
Bolivie	Lacs Colorado, Poopo, Chalviri, Salar de Uyuni
Chili	Aguas Calientes, Lagunas Brava, lac Vilama, Salar de Surire
Mauritanie	Côte sud
Inde	Rann of Kutch ; Gujarat
Madagascar	Côte Ouest

I.7. Principales applications de la spiruline

I.7.1. Alimentation humaine

Grace à son excellent profil nutritionnel, la spiruline peut générer plusieurs performances :

- En enrayant la malnutrition, elle est utilisée par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour sauver des enfants atteints de malnutrition sévère. Elle se révèle plus efficace que les médicaments pour pallier toutes les carences et traiter les effets des maladies qui découlent de la famine comme le marasme ou la kwashiorkor (Fox, 1999).
- Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération.
- Considérer comme une excellente source de vitamines B9 et B12 ainsi que de fer, la spiruline est bien adaptée aux femmes enceintes car elle leur permet d'accéder à tous les nutriments essentiels. Grâce à la phycocyanine qui augmente l'oxygénation des muscles et limite les crampes utérines, ces femmes peuvent mieux se préparer à l'accouchement et mieux récupérer par la suite après avoir pallié la fatigue causée par l'allaitement (Evoli, 2014).
- Par sa composition, la spiruline convient très bien aux enfants et adolescents ainsi qu'au bébé en âge de consommer des protéines. Son apport en éléments essentiels de qualité, ainsi que sa haute assimilabilité, sont idéaux pour les organismes en développement. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour éviter les carences et

éliminer les toxines liées à la restauration rapide adorée des ados. Elle apporte également un plus sur la qualité de la peau (Vidalo, 2015).

- Sous la loupe de la diététique, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. Agissant comme un produit coupe faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique (Tremblin et Moreau, 2017).
- En agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la Spiruline (Boudaoud, 2016).

I.7.2. Alimentation animale

Comme pour l'homme, la spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal.

Elle joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue.

Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline est couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou de convalescence.

Notons aussi que les bons éleveurs de poules n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. C'est une pratique de connaisseur qui participe à la ponte d'œuf d'une qualité nettement supérieure (Casal, 2019).

I.7.3. Cosmétique

L'analyse quantitative et qualitative des éléments qui composent la spiruline furent formelles. Autant d'actifs naturels retrouvés (acides aminés, oligoéléments, antioxydants, minéraux, vitamines, acides nucléiques (composants de l'ADN), protéines, acides gras essentiels...) dont bénéficient ceux qui la consomment dans l'assiette et que certains laboratoires de soins cosmétiques ont introduits dans des crèmes, des shampoings ou des sérums (Banks, 2007).

Grâce à ses propriétés anti-oxydantes qui empêchent la formation des radicaux libres, la spiruline améliore la souplesse et l'élasticité de la peau et donc retarde son vieillissement et apporte brillance et résistance aux ongles et aux cheveux par les nutriments et les oligoéléments qu'elle concentre (Banks, 2007). Considéré comme un aliment « beauté »

d'exception, la spiruline est utilisée aujourd'hui dans les soins anti-âges à connotation marine, dans la préparation de produits de soins en spa et thalasso (masques visage, enveloppements corporels), comme soins réparateurs et fortifiants des cheveux et des ongles, en cataplasme et enveloppement marins, comme soin revitalisant pour le corps ou masque minéralisant du visage (Casal, 2019).

I.7.4. Thérapeutique

De la valeur nutritionnelle exceptionnelle de la spiruline, découlent de multiples applications thérapeutiques dont les plus importantes sont :

- Le traitement des carences nutritionnelles (malnutrition protéino-énergétique, anémie ferriprive et hypovitaminose) ;
- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes) ;
- Le traitement de certaines affections dermatologiques ;
- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies. Elle protège le cœur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales (Evoli conseil, 2014).

Toutes ces applications nutritionnelles et les avantages thérapeutiques de la spiruline ont permis aujourd'hui sa vente et sa consommation comme complément protéique ou aliment « nutraceutique ».

I.8. Activités biologiques de la spiruline

En plus de sa valeur nutritive élevée, la spiruline présente de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, antimicrobienne, anti-diabétique et obésité et anti-toxicité *c*

I.8.1. Activité anti-oxydante

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, le superoxyde dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière.

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le

stress oxydatif (Goulambasse, 2018). Elle permet le ralentissement du vieillissement et de la destruction des cellules (Barth et Leo, 2019).

I.8.2. Activité antimicrobienne

Un grand nombre de produits et/ou d'extraits extracellulaires d'algues ont été signalés comme agents antimicrobiens (anti-viraux, anti-bactériens, anti-fongiques, anti-protozoaires), bien que la structure et l'identité détaillée de la substance active les constituants de bon nombre d'entre eux ne sont pas encore connus (Borowitzka, 1995). Parmi les micro-algues, la spiruline gagne de plus en plus la considération en tant qu'agent anti-microbien naturel (Shaoet *al* ;2019).

I.8.3. Activité antibactérienne

Certaines études préliminaires *in vitro* d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (*Escherichia coli* (*E. coli*) et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace (Qureshi et Hunter, 1995).

Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques (Alghanayem, 2017).

Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance antibactérienne particulière mais un spectre d'action qui serait un support pour démontrer le potentiel de cette activité sur quelques germes pathogènes (Kaushik et Chauhan, 2008).

I.8.4. Activité antivirale

La richesse de la spiruline en β -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (Andreani, 2012). Il a été démontré l'efficacité *in vitro* des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-1 (Yougbare, 2007).

Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer (Andreani, 2012).

I.8.5. Activité anti-inflammatoire

La richesse de la spiruline en protéine et en acide gras notamment les oméga 3 et 6 qui ne peuvent pas synthétisés par l'organisme lui donne un intérêt biologique particulier puisque cet acide gras est un précurseur des prostaglandines, molécules ayant une activité antiinflammatoire et immunostimulante au sein de l'organisme (Charpy et *al.*,2008).

La phycocyanine est un pigment assez rare dans la nature. Elle se trouve avec un pourcentage d'environ 10 à 11% en moyenne dans la spiruline (Charlemagne, 2008). Ce composant inhibe la formation de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α (TumorNecrosisFactors α), supprimant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX-2), médiateur principal de l'inflammation, et diminuant la production de prostaglandine E, La phycocyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs (Goulambasse, 2018).

Un autre composant présent dans la spiruline serait à l'origine de l'activité antiinflammatoire, le β -carotène ou la provitamine A. Il aurait pour impact l'inhibition de l'expression de COX-2 ainsi que de TNF- α et IL-1 β (Interleukine 1 β) et la production de prostaglandine E (Charlemagne, 2008).

Elle augmente l'activation des macrophages, l'activité des cellules T et l'activité des cellules naturellement destructrices (NK). Ce processus permettrait la libération des interférons gamma (IFN - γ), ce qui peut éventuellement rendre les virus inactifs (Charpy et *al.*,2008).

I.8.6. Activités anti-toxicité

Shastri et *al.*, (1999) ont étudié l'effet protecteur de *Spirulina fusiformis* (*S. fusiformis*) contre la toxicité du plomb chez les souris albinos et ont enregistré une augmentation prononcée du taux de survie par l'administration de spiruline. Récemment, Ebaidet *al.*, (2017) ont étudié l'effet protecteur de *S.platensis* contre la toxicité hépatique produite par le traitement avec des nanoparticules de cuivre. Ils ont confirmé le rôle bénéfique de *S.platensis* en tant que marqueurs antioxydants qui amélioreraient les paramètres fonctionnels hépatiques (Rajesh et Kala 2015 ; Shaoet *al.*,2019)

I.8.7. Activité anticancéreuse

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que le bêta-carotène, un des antioxydants implantés dans la spiruline, pourrait inverser le processus cancéreux et inhiber le déploiement des cellules cancérigènes. Une de ces analyses confirmatives du résultat fut élaborée avec des personnes qui avaient une leucoplasie buccale (état précancéreux de la bouche). Ces derniers, ont montré après une prise quotidienne d'1g de spiruline pendant un an une amélioration de leur état et réussirent à arrêter le développement de la pathologie. La phycocyanine intervient aussi dans cette activité en s'attaquant aux radicaux libres responsables du cancer (Vidalo, 2015).

CHAPITRE II

Matériels et Méthode

II.1. Matériels

II.1.1. Matériel biologique

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de l'Université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem.

II.1.2. Origine des souches

Les souches utilisées dans ce travail comportent des souches fongiques pathogènes qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS.

Tableau 2: la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Références
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

II.1.3. Matériel végétal

Il s'agit de la spiruline ; l'algue spiruline est une algue bleu-vert riche en protéines qui contient des acides aminés essentiels, ainsi que des vitamines A, B, D, E, K et des sels minéraux.

L'échantillon utilisé provient de la ferme biologique d'Al Kiram, une ferme aquacole intégrée à l'agriculture, produisant des algues spiruline dans la région de Loutayah, province de Biskra en Algérie. Elle est la plus grande ferme de production de spiruline biologique en Afrique du Nord, avec une capacité de production attendue de 10 tonnes par an.



Figure 4 : Échantillon de la spiruline AL kiram (photo prise par nous-mêmes)

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'extrait méthanol de la spiruline :

Dans notre travail, nous avons opté pour le méthanol comme solvant d'extraction, car les solvants alcooliques (éthanol, méthanol) donnent de meilleurs taux d'extraction et sont hautement sélectifs pour les polyphénols (Sipgno et *al*, 2007). Après broyage de l'algue étudié, 10 g du matériel végétal est soumis à une agitation pendant 30 minutes à température ambiante, dans 100 ml du méthanol (75-125 ml) pendant 1 heure. Ensuite l'extrait est filtré par papier filtre, puis concentrés au Rota vapeur. La solution récupérée est séchée dans l'étuve à 37°C pendant 72h, pour obtenir l'extrait brut méthanol de la spiruline (Karumi et *al*. 2004).

1. Le Rendement de l'extrait brut méthanol de la spiruline :

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des Polyphénols extraits et la masse de la matière première d'algue traité. Il exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

P1 : poids du ballon après évaporation.

P2 : poids du ballon avant évaporation.

P3 : poids de la matière sèche algale.

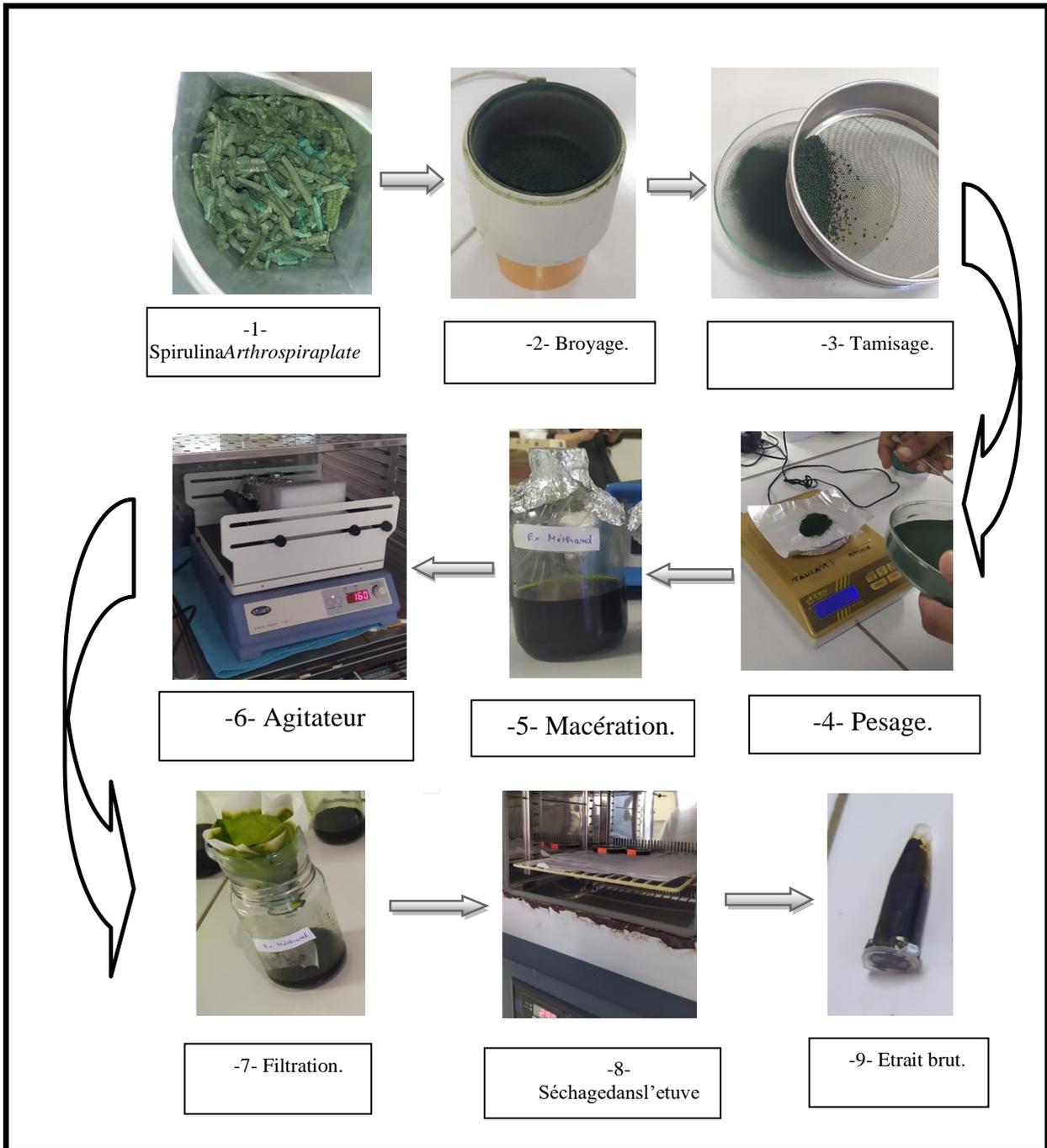


Figure 5 : Les Différents étapes réalisées dans L'expérimentation.

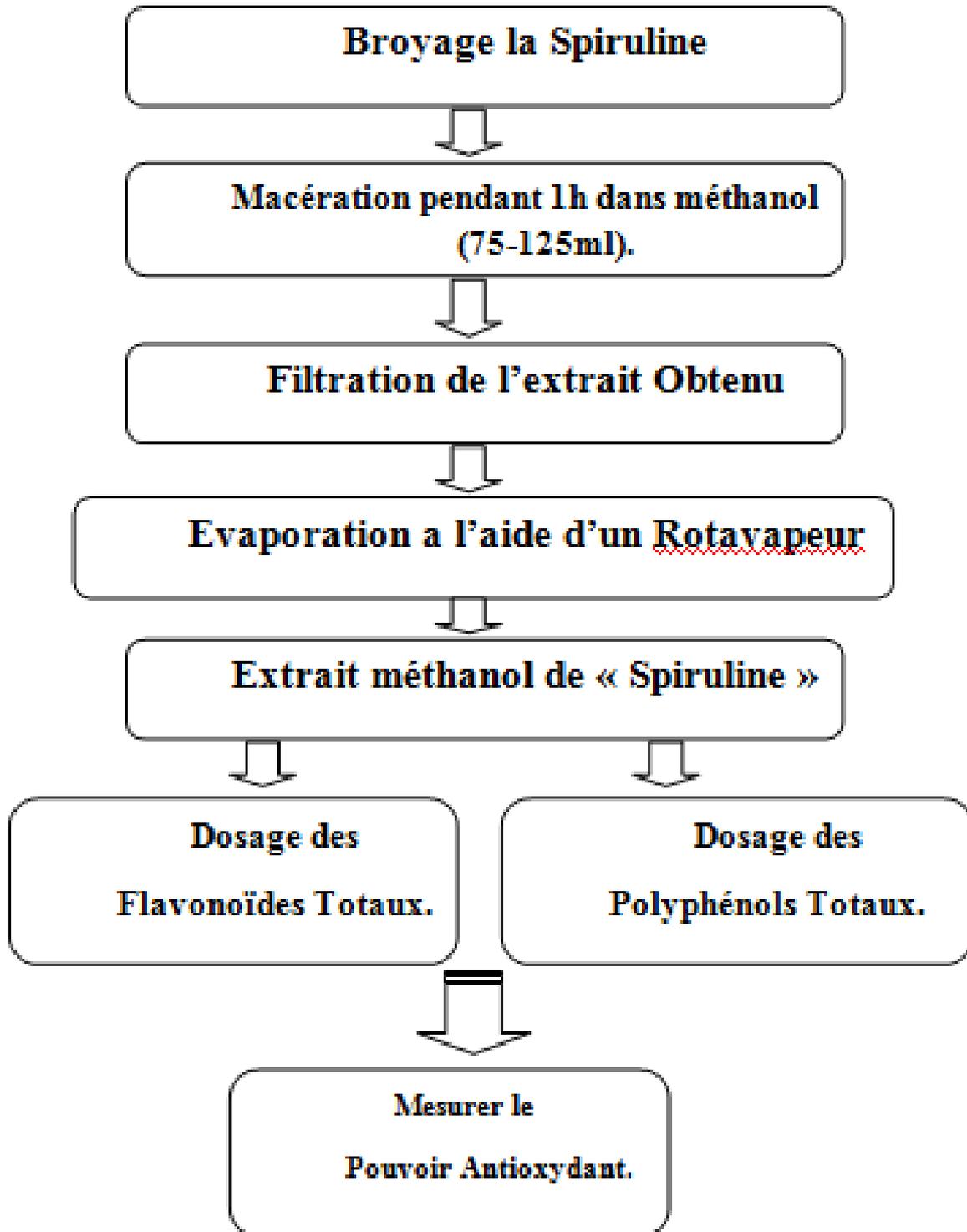


Figure 6 : Les Différents étapes réalisées dans L'expérimentât

II.2.2. Dosage des Polyphénols Totaux

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de FolinCiocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide Phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄) et d'acide Phosphomolybdique (H₃ PMO₁₂ O₄). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est comprise entre 725 et 760 nm (Lit et *al.*, 2007).

Méthode

Un Volume de 0.2 ml d'extrait a été mélangé avec 1.5 ml de Folin Ciocalteu (10%). Après 5 minutes, on rajoute 1.5 ml d'une solution de Carbonate de sodium (6%). Le mélange est soumis une agitation puis incubé à température ambiante a l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm sur un Spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait sec ($\mu\text{g EA/mg d'extrait}$).

$$\text{Polyphénols} = a .f/C$$

a : Concentration de Polyphénols (μgEq acide gallique/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution ($\times 22$).

C : Concentration de l'extrait.

Les étapes de dosage de Polyphénols totaux sont présentées dans la Figure :

Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations de 0.1 au 10 $\mu\text{g/l}$, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale fraîche.

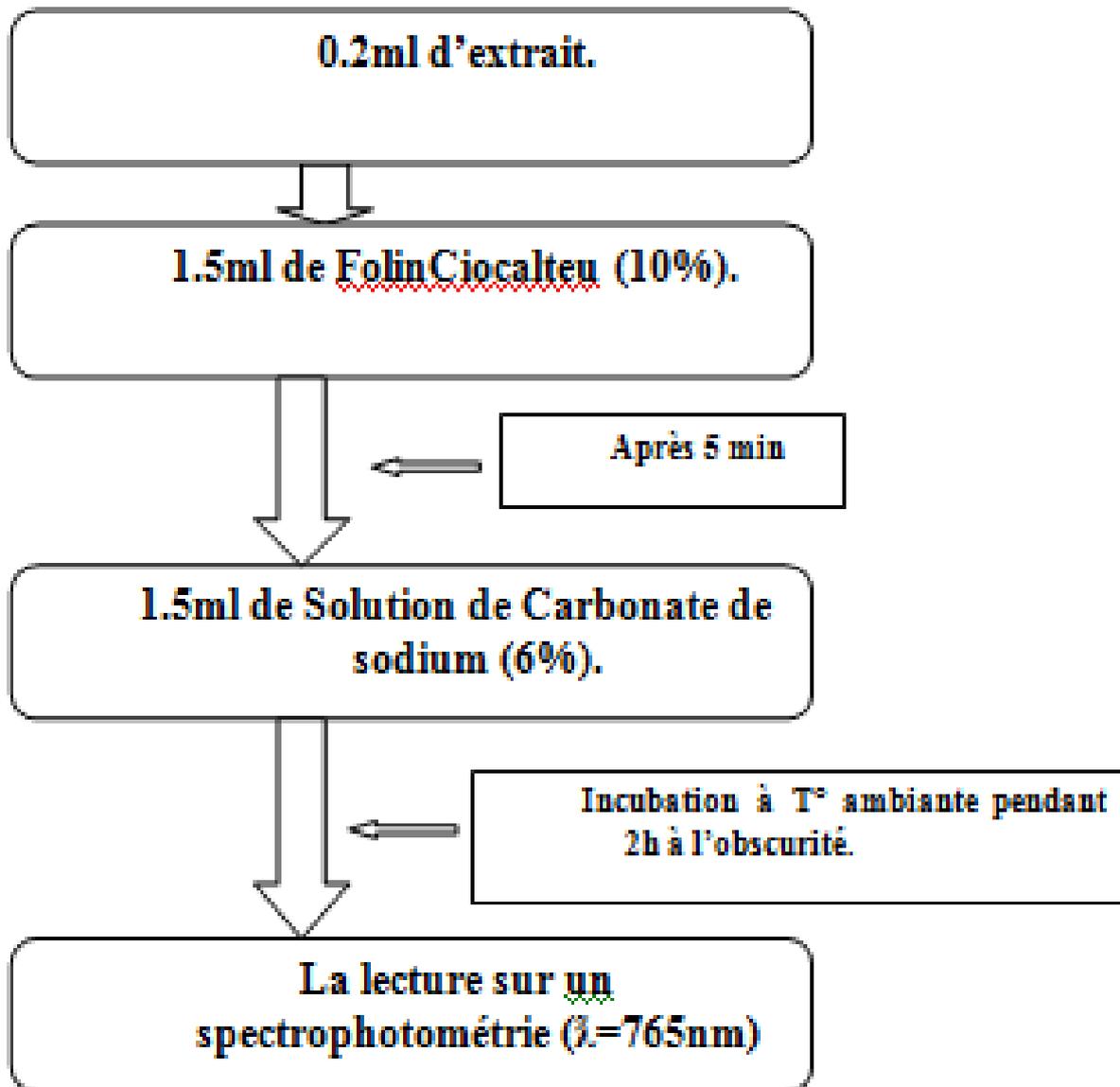


Figure 7 : Dosage de Polyphénols totaux (Lit et al., 2007)



Figure 8 : Incubation, visage de couleur et lecture à l'aide d'un spectromètre (photos prises par nous-mêmes)

II.2.3. Dosage des Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) 2%. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, qui absorbe dans le visible à 510 nm (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

Méthode

Un Volume de 1 ml d'extrait a été additionné à 1 ml de Trichlorure d'aluminium à 2% ($AlCl_3$). Le mélange a été placé à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm sur un Spectrophotomètre. Le Quercétine est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents Quercétine par mg d'extrait sec (μg EQ/mg d'extrait).

Flavonoïdes = $a.f/C$

a : Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f : Facteur de dilution ($\times 10$).

C : Concentration de l'extrait.

Courbe d'étalonnage de la Quercétine

La courbe d'étalonnage est effectuée par Quercétine à différentes concentrations de 0.1 au 10 $\mu\text{g/l}$, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents de Quercétine par gramme de matière végétale fraîche.

Les étapes de dosage de flavonoïdes totaux sont présentées dans la Figure :

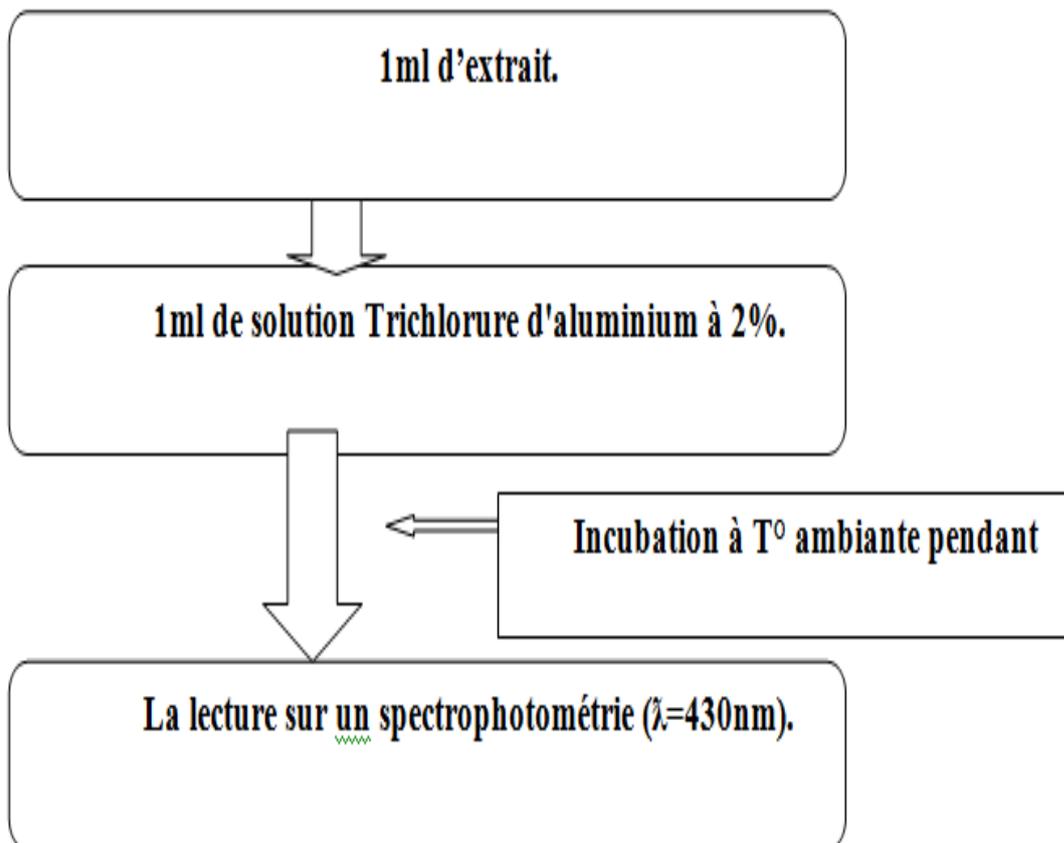


Figure 9: Dosage de Flavonoïdes totaux (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

II.2.4. Mesure du pouvoir antioxydant

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, in vitro et in vivo des composés Phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable le DPPH (2,2-Diphényl- 1-picrylhydrazyl) (Sharma et *al.*, 2009 ; Bourkhiss et *al.*, 2010).

Évaluation de l'activité Antiradicalaire du radical libre DPPH

La méthode du DPPH utilise un radical relativement stable, dont les antioxydants réduisent ce radical ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenylpicryl hydrazine. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH ; dont la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants donneur de proton présents dans l'échantillon (Sanchez Moreno, 2002 ; Parejo et *al.*, 2003).

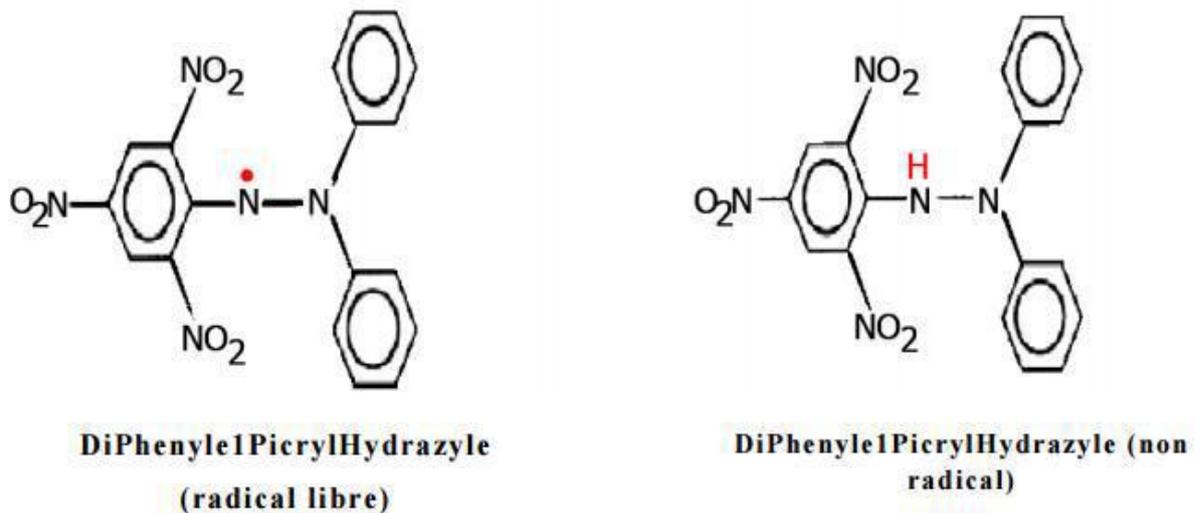


Figure 10 : Structure Chimique de radical libre et non radical (Molyneux, 2004).

Mode Opératoire

L'effet de l'extrait sur la réduction du DPPH a été réalisé selon le Protocole suivant (Benariba et *al.*, 2013).

Préparation Du DPPH

3.15 mg de DPPH est dissous dans 50ml du méthanol pur pour obtenir une solution de DPPH.

Préparation des échantillons

Un Volume de 1ml de notre extrait est dissout dans 500µl de solution méthanolique de DPPH (0.16mmol/ml), fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 0.1ml du méthanol avec 1ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Le mélange obtenu est ensuite agité, puis gardé à

l'abri de lumière à température ambiante pendant 30min. Ensuite La lecture se fait à l'aide d'un Spectrophotométrie de la densité optique à 517nm.

Pourcentage D'inhibition du radical DPPH

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac : Absorbance du contrôle négatif.

At : Absorbance de l'extrait.

L'acide ascorbique à été utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations. Le mécanisme réactionnel du test DPPH est présenté dans la Figure suivante :

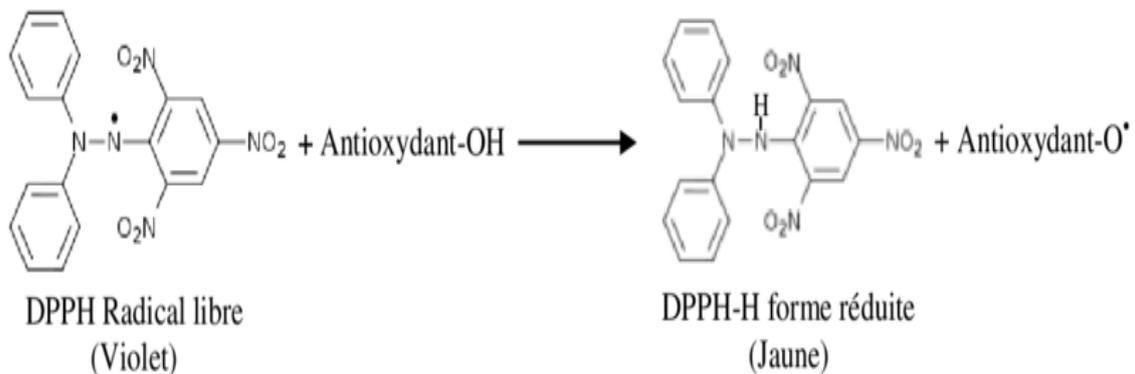


Figure II: Mécanisme réactionnel du test DPPH (Molyneux, 2004).

La valeur IC₅₀ est la concentration d'extrait qui assure la réduction de 50% du DPPH, déterminée graphiquement par la régression linéaire, pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (Samarth et *al.*, 2008).

Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide ascorbique à différentes concentrations de 0.1 au 10 µg/l, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière végétale fraîche.

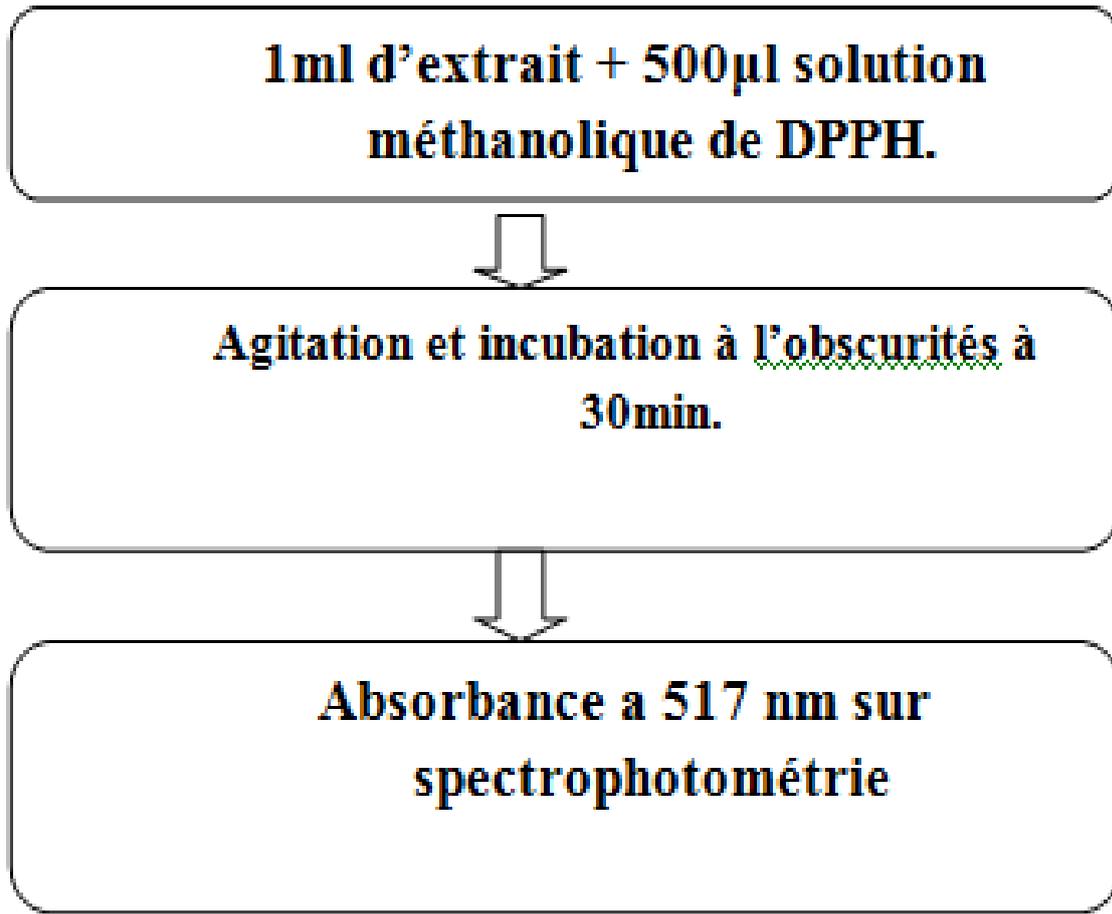


Figure 12: Protocol de préparation de l'échantillon de test DPPH (Benariba et al., 2013).

II.2.5. Activité antifongique

II.2.5.1. Réactivation de souches pathogènes

II.2.5.2. Les souches pathogènes utilisées

Les germes pathogènes, *C albicans* et *Aspergillus brasiliensis* ont été réactivés en bouillon PDA, et incubés à 28 °C pendant 72 H pour levure (*C albicans*) et à 28°C pendant 7 jours pour moisissure (*Aspergillus brasiliensis*); pour s'assurer de leur pureté ainsi que les réactiver.

II.2.5.3. Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectué par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon PDA à 28 °C pendant 24 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune, puis ajuster la densité optique entre l'intervalle de 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 10^8 UFC / ml (Kishor, 2005).

II.2.5.4. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

Cette méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongigramme), elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle), l'effet du produit antimicrobien sur la cible, le résultat est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, qui en sa fonction, la souche du testée sera qualifiée de vue de sa sensibilité : sensible, intermédiaire ou résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et l'effet de la diffusion du produit testé (Broadasky et *al.*, 1976).

Cette méthode consiste à couler 15 ml Muller Hinton molle avec 100 μ l d'une culture jeune de 24h d'incubation de nombre de 10⁸ UFC/ml (la densité optique 0.08-0.1) sur une boîte de pétri. Après solidification à température ambiante dans une zone stérile, des puits sont creusé à l'aide d'un embout jaune stérile. Généralement ont réalisé 1 puits par boîte de 6mm de diamètre. Un volume de 50 μ l de l'extrait brut est mis dans les puits.

Les boîtes de pétri sont incubées à 28°C pendant 3 jours pour *Candida albicans* et pendant 7 jours pour *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 La présence de zone d'inhibition à formées autour des puits est examinée après 24h d'incubation (Hwanhlem et *al.*, 2011). La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition apparaissant ; il sera considéré comme positif si le diamètre est supérieur à 2 mm



Figure 13: Méthode de diffusion en puits (photos prises par nous-mêmes).

CHAPITRE III

Résultats et Discussions

III.1. Rendement d'extraction de la spiruline

Le rendement de l'extraction se calcule par le rapport entre la masse de Polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traitée. Après extraction et récupération d'extrait, leur rendement a été déterminé par rapport à 10 g de matière végétale exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

- P1 : poids après évaporation.
- P2 : poids avant évaporation.
- P3 : poids de la matière végétale de départ.

Donc :

P1 :120.35g

P2 :119g

P3 :10g

Nous avons calculé le rendement de l'extraction, le résultat obtenu est représenté dans la

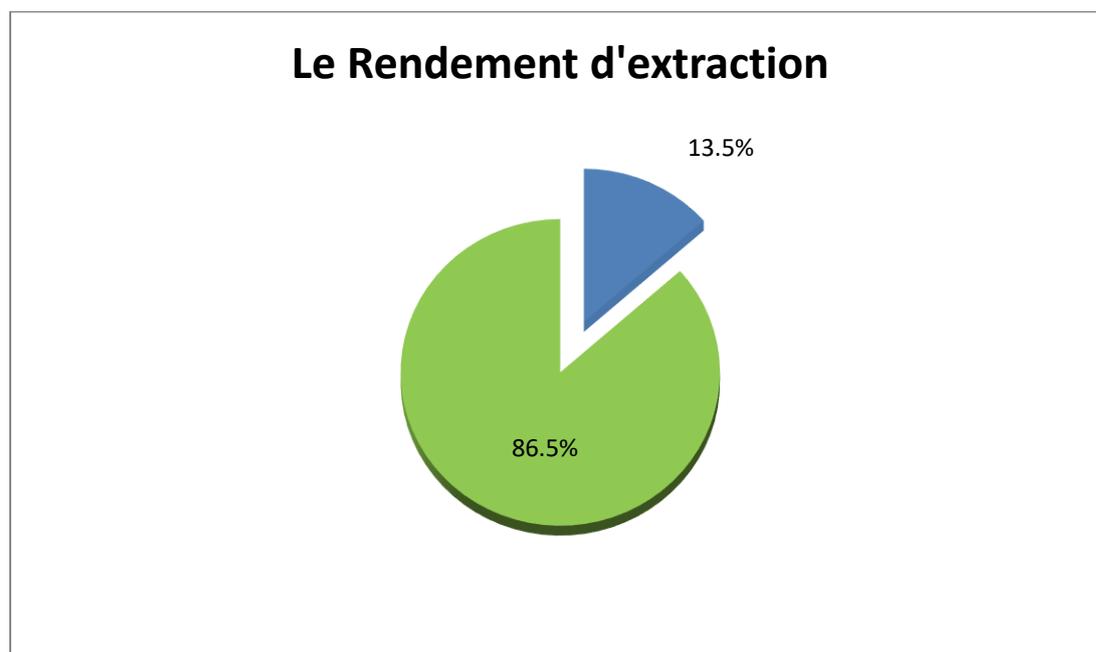


Figure 14 : Rendement d'extraction de la spiruline.

Le calcul de la teneur de rendement d'extraction repose sur plusieurs facteurs à savoir température d'extraction, de la matière végétale initiale et l'humidité (Wattiaux, 1994). Selon Michel et *al.* (2012), le rendement des extractions dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire.

De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique de l'extrait préparé (Tefiani, 2015).

III.2. Dosage des Composés Phénolique

III.2.1 Taux de Polyphénols totaux dans l'extrait de la spiruline

La teneur en Polyphénols totaux dans l'extrait méthanol est déterminée à partir des équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en mg. Eq acide gallique par mg d'extrait (**Figure 17**).

$$Y = 0,0014x - 0,2025$$

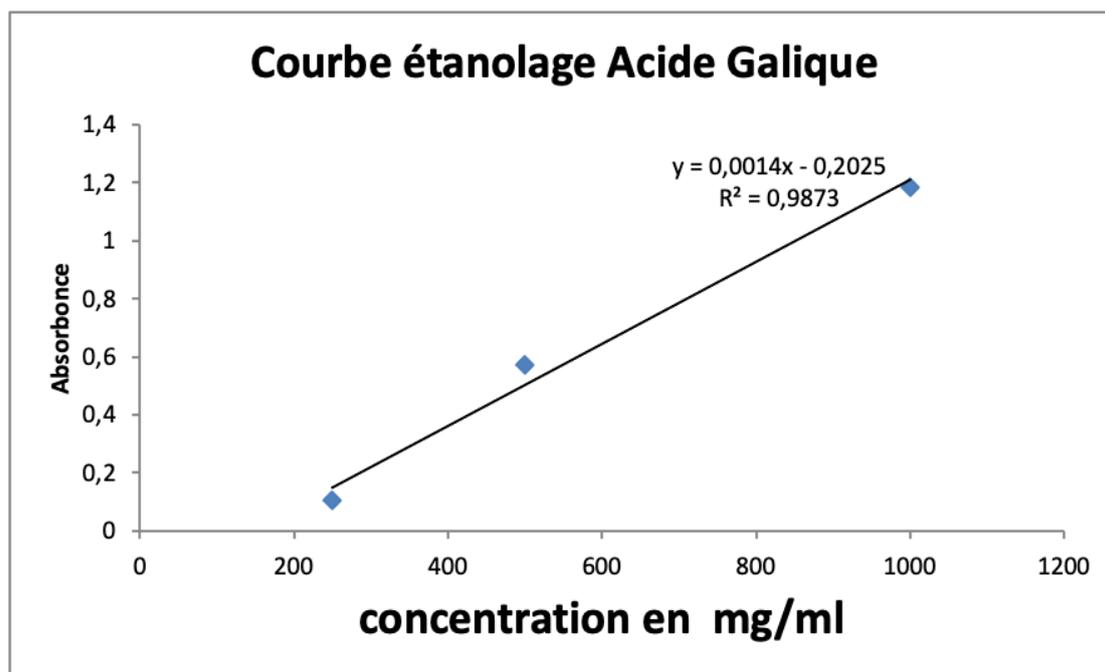


Figure 15: courbe étalon de l'acide gallique

Le dosage des polyphénols a été réalisé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu à 2%. Malgré la sensibilité et la simplicité de cette méthode qui est largement utilisée, elle n'est pas spécifique des Polyphénols.

En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres, l'acide ascorbique et des composés soufrés, ce qui peut influencer les résultats obtenus (Singleton et Rossi, 1965). En ce qui concerne notre étude, l'analyse des composés phénoliques montre que la teneur en Polyphénols enregistrée dans cette étude est de 2.44mg. EA par mg d'extrait.

Des études récentes ont montré que les teneurs en composés phénoliques et surtout le Polyphénol, changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce, à cause des facteurs extrinsèques (température, climat...), génétiques (la variété et l'origine d'espèces), physiologiques (le degré de maturation des algues, les organes utilisés) et de la durée de stockage (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Ksouri *et al.*, 2009).

III.2.2 Taux de Flavonoïde totaux dans l'extrait de la spiruline

Équations de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimées en mg. EqQuercétine par mg d'extrait (**Figure 18**).

$$Y = 0,0011x + 0,0126$$

La teneur en flavonoïde est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage à la Quercétine. La teneur en flavonoïdes enregistrée dans cette étude est de 10.16 µg EQ/mg extrait, ce résultat est en accord avec d'autres travaux où ils ont trouvé qu'il existe seulement peu données concernant le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (Meenakshi and Gnanambigai, 2009 ; Sava and Sirbu, 2010 ; Zeng *et al.*, 2001).

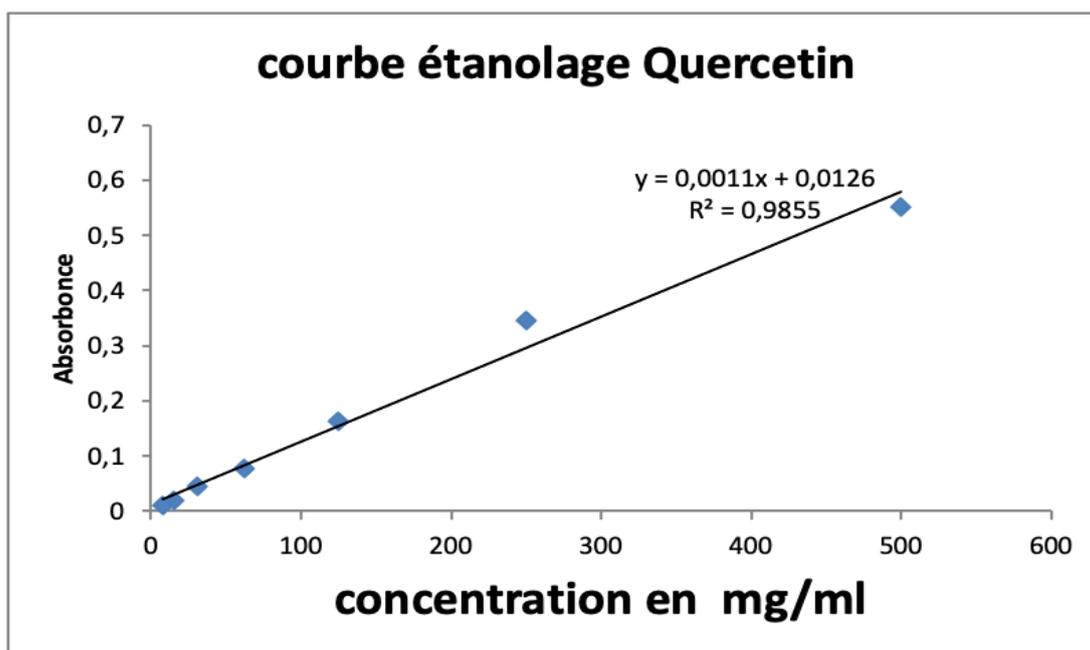


Figure 16: Courbe étalon Quercetin

Selon (Ravel et *al.*, 2005), les méthodes de conservation et d'exposition à la lumière des algues peuvent affecter la teneur en flavonoïdes. Par ailleurs, il est rapporté que les teneurs en flavonoïdes dans les algues marines varient pour plusieurs raisons à savoir l'espèce, la saison et ainsi que les conditions géographiques (Sarojini et *al.*, 2012).

Tableau 3: Teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut de la spiruline.

Dosage	Phénols totaux ($\mu\text{g EA/mg d'extrait}$)	Flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$)
Extrait Brut	2,44	10,16

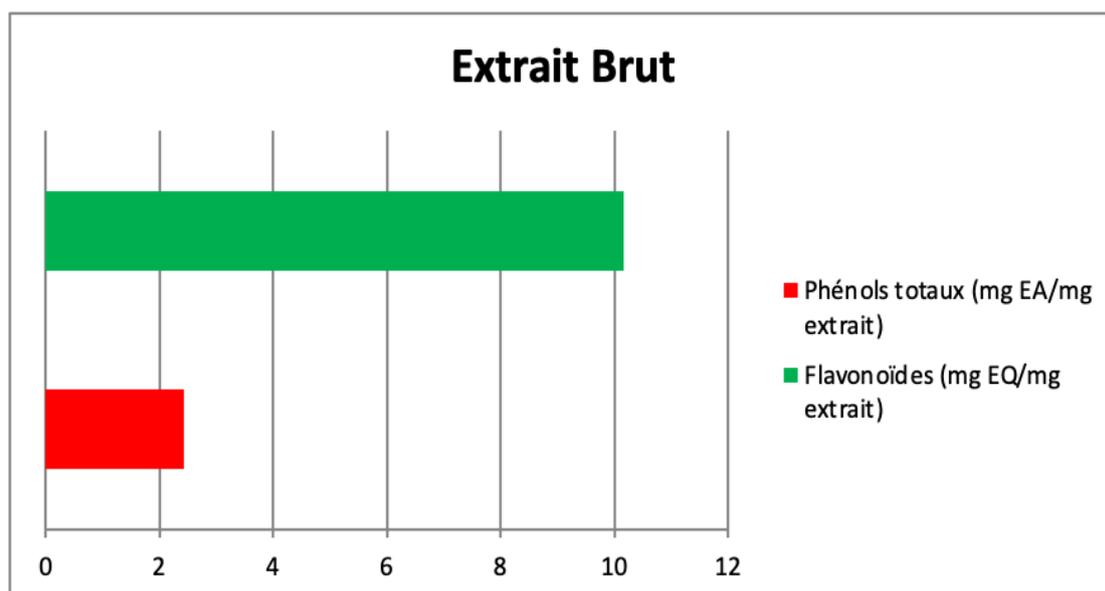


Figure 17: Histogramme des teneurs en Phénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait brut de la spiruline.

D'après ces résultats nous constatons que la spiruline est riche en flavonoïdes totaux (10,16 μg EQ/mg extrait) par rapport les phénols totaux (2,44 μg EA/mg extrait)

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduit les possibilités de comparaison entre les études (Trabelsi et *al.*, 2010).

De ce fait le méthanol reste le meilleur solvant pour extraire ces composés, cette affinité est appuyée par plusieurs travaux (Abdille et *al.*, 2005).

III.2.3. Évaluation du pouvoir antioxydant L'activité antioxydante de l'extrait la spiruline est évaluée par le test de réduction du radicale libre DPPH

III.3.1 Test de réduction du radical libre le DPPH

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant la méthode du test DPPH. Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle est un radical de couleur violacée qui absorbe dans l'UV- visible à la longueur d'onde de 517nm, suivie par spectrophotométrie. Il fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier l'activité antioxydante des composés phénoliques.

Dans ce test, le substrat est un radical libre qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu éthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé, car il est rapide et facile, Malgré qu'elle soit couteuse.

L'étude quantitative d'acide ascorbique de la spiruline, est réalisée par des dosages spectrophotométrique. La teneur en vitamine C est exprimé en microgramme d'équivalent l'acide ascorbique par gramme d'extrait (Figure 19).

$$Y = 0,744x + 3,0806$$

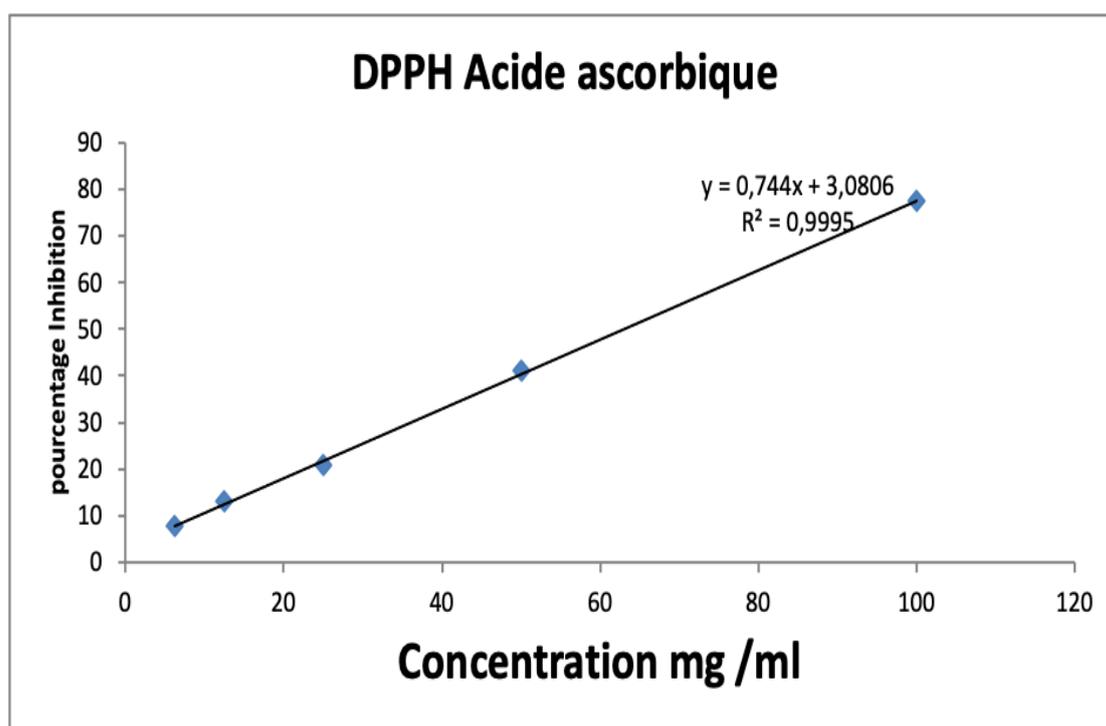


Figure 18: Effet anti radicalaire de l'acide ascorbique (DPPH)

III.3.2 Evaluation de l'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé.

La concentration de l'acide ascorbique qui inhibe 50% du DPPH (IC50) est évaluée graphiquement. L'acide ascorbique présente donc un faible (IC50), ce qui est en accord avec le pouvoir antiradicalaire élevé obtenu.

L'IC50 est déterminée à partir d'une courbe de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH enregistrée dans cette étude est 353.22 mg /ml, cette valeur reste nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique (63.06 mg/ml).

$$Y = 0,0917x + 2,4$$

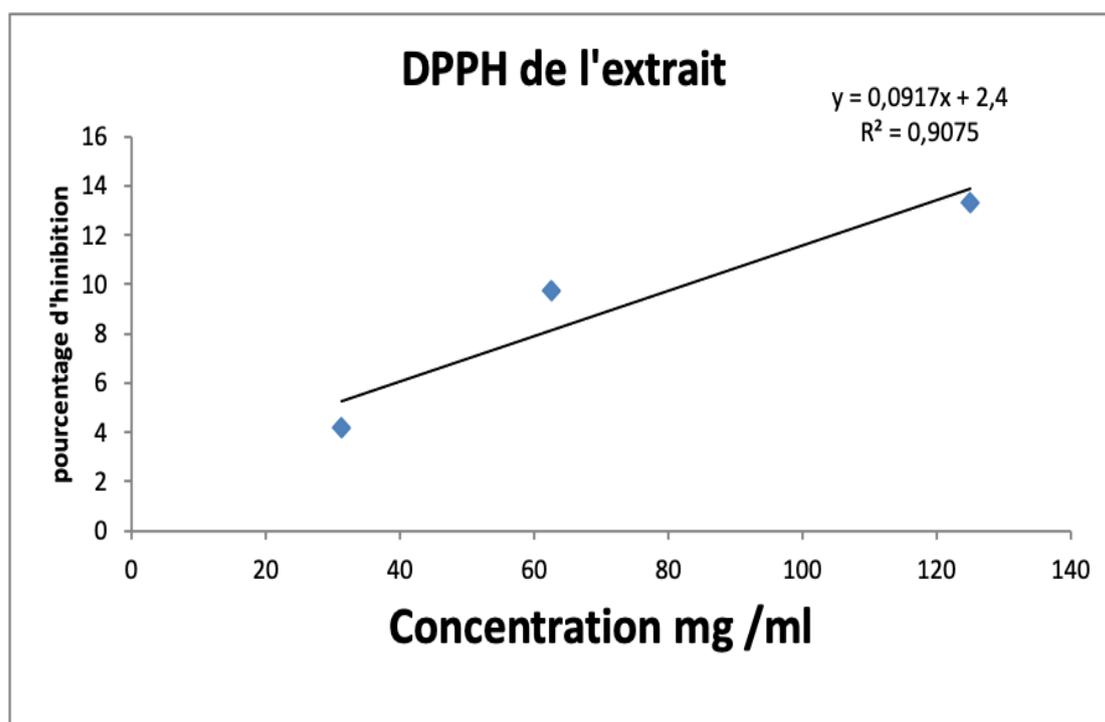


Figure 19: Effet anti radicalaire d'extraits méthanol de la spiruline (DPPH)

III .4. Pourvoir de l'activité antimicrobienne de la spiruline :

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobienne d'extrait brut de la spiruline par la méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983) sur un milieu gélosé solide, Mueller-Hinton, c'est le milieu le plus utilisé pour faire ces tests d'antagonisme. L'activité antimicrobienne de la Spiruline a été estimée en termes de

diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant l'extrait brut de la Spiruline à tester vis-à-vis de 2 microorganismes testés qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS, qu'un champignon : une levure *C. albicans ATCC 1023*.

III.5. Méthode de diffusion en puits AWDT (Barefoot et Klaenhammer, 1983)

C'est la technique de base utilisé pour étudier la capacité substance à exercer un effet antimicrobien. D'après Les résultats obtenus, on remarque que les propriétés antifongiques dans ce test ont montré que l'extrait brut de la Spiruline influence totalement sur *C. albicans ATCC 1023*, mais aucune activité n'a été enregistrée vis-à-vis *Aspergillus*

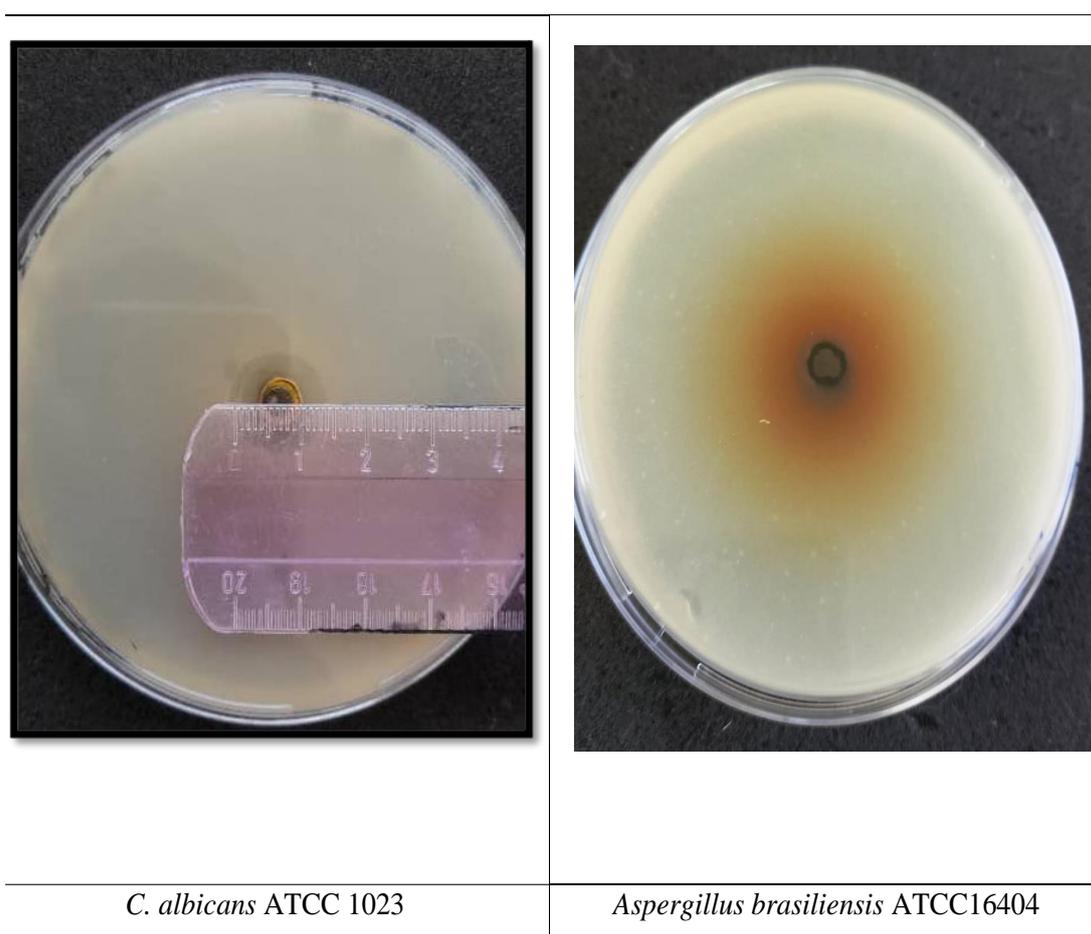


Figure 20 : Pouvoir antifongique d'extrait brut du la spiruline par la méthode de diffusion en puits vis-à-vis *C. albicans ATCC 1023* et *Aspergillus brasiliensis ATCC 16404*

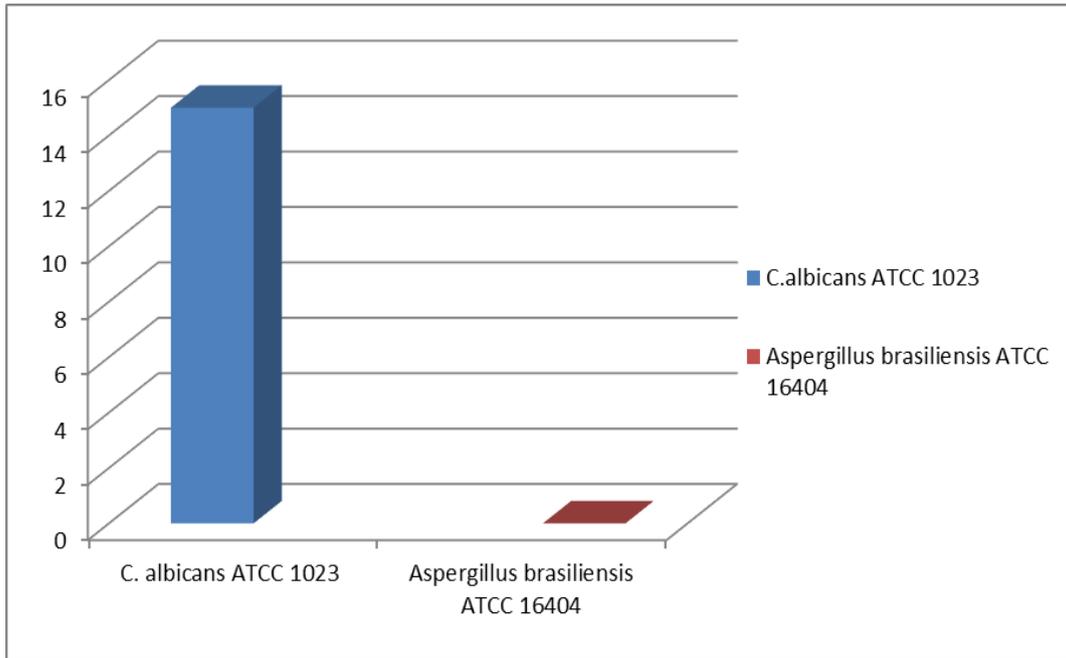


Figure 21 : On a obtenu le diamètre d'inhibition 15 mm du *C. albicans* ATCC 1023 par contre aucun résultat de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

Conclusion

Conclusion

De nos jours, la spiruline *Arthrospira platensis* suscite un intérêt croissant en raison de ses nombreuses propriétés biologiques bénéfiques pour la santé. Cette micro-algue est reconnue comme une source exceptionnelle de nutriments essentiels tels que les protéines, les acides aminés, les vitamines et les minéraux. En plus de ses qualités nutritionnelles, la spiruline présente des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et immunostimulantes, ce qui en fait un complément alimentaire précieux pour renforcer le système immunitaire, lutter contre le stress oxydatif et favoriser la santé en général. Son utilisation dans des domaines variés comme la médecine, la cosmétologie et même l'agriculture témoigne de son potentiel en tant que superaliment polyvalent et naturel.

La conclusion de cette étude sur la spiruline *Arthrospira platensis* met en évidence plusieurs points importants. Tout d'abord, il a été démontré que la spiruline possède des propriétés antioxydantes, ce qui la rend efficace pour protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. De plus, l'étude a révélé que la spiruline présente une activité antifongique contre des souches fongiques pathogènes, ce qui suggère son potentiel en tant qu'agent antifongique.

Les résultats expérimentaux ont montré que la spiruline est riche en flavonoïdes totaux, avec une teneur de 10,16 µg EQ/mg d'extrait, par rapport aux phénols totaux qui sont de 2,44 µg EA/mg d'extrait. De plus, la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH a été calculée, montrant un pouvoir antiradicalaire élevé de la spiruline.

Enfin, l'étude a également évalué l'activité antimicrobienne de la spiruline, montrant un diamètre d'inhibition de 15 mm contre la levure *C. albicans* ATCC 1023, mais aucun résultat significatif contre *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

En conclusion, cette étude met en lumière les multiples bénéfices de la spiruline *Arthrospira platensis*, notamment en tant qu'agent antioxydant, antifongique et antimicrobien. Ces résultats renforcent l'intérêt de la spiruline dans divers domaines, notamment en tant que complément alimentaire ou agent thérapeutique potentiel.

Références bibliographiques

A

- AhounouMorènikè Nadège. 2018. La Spiruline : Un Complément Alimentaire En Conseil Al'officine. Enquête D'utilisation, These Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Pharmacie
- Ahii Chia M., Lombardi A.T., Da GariciaMelão M. & Parrish C.C., 2013. Lipid composition of *Chlorella vulgaris* (trebouxiophyceae) as a function of different cadmium and phosphate concentrations. *Aquatic Toxicology*, 171-182.
- APHA-AWWA-WPCF, 1992. American Public Health Association, Water EnvironmentFederation, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18th ed. Washington, DC, USA.
- Asfour N.Y., Baba Hamed M.B., Abi-Ayad S-M. E-A. 2019. The Influence of Light Intensity and Photoperiod on the Growth of two Fresh Water Green Algae *Tetranephrisbrasiliensis* and *Scenedesmus* sp. Isolated from Estuary. *BiotechnolIndJ.* ;15 (3):192.
- Anses. 2017. Avis De L'anses Relatif Aux "Risques Liés A La Consommation De Compléments Alimentaires Contenant De La Spiruline." Maisons-Alfort :
- Aumaya T, 2015. Thèse de doctorat, l'UNAM (l'université nantesangers le mans),

B

- Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC. 1980. Biologia fondamentale del genere Spirulina. In : Materassi R (ed) Prospettive della Coltura Massiva di Spirulina in Italia. CNR Rome, pp 49-85
- Banks J, 2007. Etude spiruline au palacret. pp7 et pp12
- Bernard C. 1988. Les Cyanobactéries Et Leurs Toxines. Rev Francoph Lab 2014; 2014:53-68.
- Borowitzka. M.A, Borowitzka L. J. Microalgal biotechnology. *Cambridge University Press.* p 477
- Brennan, L. & Owende, P. 2010. Biofuels From Microalgae--A Review of Technologies For production, Processing, And Extractions Of Biofuels And Co-Products renewable And Sustainable Energy Reviews, 14, 557-577

C

- CASAL A., 2019. L'aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr
- Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. 2001. *Form-genus I. Arthrospira*

- Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., and Bourges, H. 1996. Farmacología y toxicología de la Spirulina. *Rev Invest Clin* :389-399.
- Charpy L, Langlade MJ, Alliod R. 2008. La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? Inst Rech Pour Dév Marseille.
- Charpy L. 2008. Colloque International « la Spiruline et le développement », formation et transfert de technologie, en matière de culture de Spiruline : 28 - 29 et 30 avril 2008. Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR:8, 9, 89, 91, 131-134.
- Chorus I. and Bartram J. *Toxic cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management.* http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxcyanobacteria.pdf, page consultée le 11 décembre 2006.
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel From Microalgae *Biotechnology Advances*, , 25, 294-306.
- Clément-Larosière B., 2012. Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂. Thèse de doctorat, Ecole centrale des arts et manufactures (Paris), 233 p.
- Cruchot H. 2008. La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite

D

- Danesi, E.D.G., Rangel Y. C.O., Carvalho, J.C.M. and Sato, S. 2004. Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass and Bioenergy*.26: 329-335.
- D.J. Holme, H. Peck 1998. *Analytical Biochemistry*.
- Doucha, J., Livansky, K. 1995. Novel outdoor thin-layer high density microalgal culture system : productivity and operational parameters. *Algol. Stud. (Trebon)* 76, 129-147

F

- Falquet. 1996. Spirulina: Aspects Nutritionnels, Document Antenna Technologie Genève
- Falquet. 1996. spirulina : Aspects nutritionnels, document Antenna technologie Genève
- Ferhat W, Lakehal S . 2019. Culture Et Production De La Spiruline *Arthrospira Platensis* dans La Région D'el 'Oued.
- Fox. 1999. spiruline, Technologie pratique et promesse – France, 240p

Fox R.D. 1986. Algoculture : la spiruline, un espoir pour le monde de la faim. Edisud, 270 pages.

Fox, RD., 1999. La spiruline (Technique, pratique et promesse), Edition sud, Aix-en provence.

Fox R.D, 1996 : *Spirulina, production &potential*. Aix en Provence : EdisudPelaez, F., 2006.

The historical delivery of antibiotics from microbial natural products. Can history repeat?., *Biochem. Pharmacol*: 977-981.

FOX D et R, 1999. La spiruline : technique, pratique et promesse Edisud. 246P. ISBN 27449-0100-8

G

Gozan, M., &Noviasari, C. 2018. The effect of glycerol addition as plasticizer in *Spirulina platensis*-based bioplastic. In E3S Web of Conferences (Vol. 67, p. 03048). EDP Sciences

Grobbelaar, J. U. and Kurano, N. 2003. "Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation." *Journal of Applied Phycology* 15 (2-3). 121-126.

H

Hocini Med Abdelhadi. 2017. Production De La Spiruline En Algérie (*Arthrospira Platensis*: Bilan Et Perspectives

I

Iltis. A, 1968. Tolérance de salinité de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl., (Cyanophyta)

J

Jackson. D.F. 1962. Algae And Man: Based On Lectures Presented At The Nato Advanced Study. Louisville, Kentucky

Jordan J P, 1999. *Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal*. Publication Antenna Technologies

Jordan. 1999. Sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture, international biotechnology, Inde, PPP58, 96,97

Jourdan. 1999. Cultivez votre spiruline revue antennatechnology, 125 pages.

J.P Jourdan. 2006. Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production despiruline.

JOURDAN J.P. 1997. Cultivez votre spiruline, manuel de culture artisanale de la spiruline. le Castanet, 30140 Mialet. 126P

K

K.nig. 2007. Les algues : première lignée végétale. Disponible sur :<http://www.futurasciences.com/planete/dossiers/botanique-algues-vegetauxaquatiques-523/> publié en 2005 modifié en 2015.

L

Lowry, O.H., Rosebrough, N.L , Farr, A.L. and Radall, R.J. 1951. Protein measurementwith the folin-phenol reagent. J. Bio. Chem. 193, 265-275

M

Madkour F. F., Kamil A.E.-W. & Nasr H.S., 2012. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 38:51-57.

Manet A. 2016. La Spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires Et Conseils AL'officine. Thèse D'exercice. Université Grenoble Alpes,

Mennaa F.Z., Arbib Z. & Perales J.A., 2015. Urban wastewater treatment by seven speciesof microalgae and an algal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics andharvestability. *Water Research*, 83: 42-51.

M. Bradford.A. 1876. Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgramquantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1976) : 248 – 254

N

N'goran Urbain Florent Niangoran. 2017. Optimisation De La Culture De La Spiruline EnMilieu Contrôlé : Eclairage Et Estimation De La Biomasse. Optique / Photonique.Université Paul Sabatier – Toulouse Iii, Français. Nnt : 2017tou30378. Tel-02013829.

O

Ogbonda KH, Aminigo RE and Abu GO., 2007. Influence of temperature and pH on biomass production and protein biosynthesis in a putative *Spirulina* sp. *Bioresour Technol*:98:2207-2211.

Ogbonna, J.C., Tomiyama, S., Tanaka, H. 1998. Heterotrophic cultivation of *Euglenagracilis* Z for efficient production of α -tocopherol. *J. appl. Phycol.* 10, 67-74.

Onen Cinar, S., Chong, Z. K., Kucuker, M. A., Wieczorek, N., Cengiz, U., & Kuchta, K. 2020. Bioplastic Production from Microalgae: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(11), 3842.

P

Panigua-Michel J, Dujardin E, Sironval C. 2007. Histoire de spiruline, communication botanique (en ligne).

Praharyawan S., Rahman D.Y. & Susilaningih D., 2016. Characterization of lipid productivity and fatty acid profile of three fast-growing microalgae isolated from Bengkulu for possible use in health application. *The Journal of Tropical Life Science*, 6(2): 79-85.

Prat R. et Vonarx V. 2008. La structure de chloroplaste : La théorie endosymbiotique. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Chloroplaste/endosymbiose.htm>, page consultée le 23 octobre

R

Rabenevanana MW, Vicente N, Fox R, Pierlovisi C, x. 2008. COLLOQUE INTERNATIONAL «SPIRULINE ET DEVELOPPEMENT»

Rafiqul IM, Hassan A, Sulebele G, Orosco C and Roustaian P., 2003. Influence of temperature on growth, biochemical composition of *Spirulina platensis*, *S. Fusiformis*. *Iran Int J Sci*: 97-106

Richmond A. *Handbook of microalgal mass culture*. 1986. CRC Press, Inc

Richmond A., 2004. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science, 59 p.

Robert A.A., 2015. *Algal Culturing Techniques*, 1st Edition, Academic Press, 596.

Ruiz J., Arbib Z., Alvarez-Diaz P.D., Garrido-Pérez C., Barragan J. & Perales J.A., 2012. Photobiotreatment model (PhBT): a kinetic model for microalgae biomass growth and nutrient removal in wastewater. *Environmental Technology*, 1-13.

S

- Sall M.G, Dankoko B., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwin N. 1999. *Résultats d'un essai deréhabilitation nutritionnelle avec la Spiruline à Dakar (à propos de 59 cas)*. 143-146.
- S. Chader, T. Mila, A. Rabhi, A. Chegrane, H. Rahmoun et N. Chibane. 2009. Sélection des Souches locales de microalgue d'intérêt industriel. Rapport interne projet 6/7 CNRPDA / MPRH. Algérie.
- SGUERA S. 2008. *Spirulina platensis* et ses constituants, intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. [Nancy]: Henri Poincaré - Nancy 1;
- Sheehan J., T. Dunahay, J. Benemann And P. Roessler. 1998. « A Look Back At The U.S. Department Of Energy's Aquatic Species Program – Biodiesel From Algae ». Prepared For: U.S. Department Of Energy's Office Of Fuels Development,.
- Sophie, M. 2017. Développement D'un Bioprocédé Continu Couplant La production Et La Purification D'un Anticorps Recombinant Sciences Agricoles. Université De Bordeaux, Français. Nnt : 2017bord0898
- SOULIES Antoine. 2014. Contribution à l'étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique. Diplôme d'Etat de Docteur en Génie des Procédés, Université de Nantes, Nantes.
- Stanier R. Y. 1974. Division I, The Cyanobacteria. In: Bergey's manual of determinative bacteriology.
- Stizenberger. D. R. Boone & R.W. 1852. Castenholz, eds. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York, USA: Springer;. 1. p. 542-543.
- Svcerk C., Smith D.W. 2004. *Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment option: a review*. Journal of Environmental Engineering and Science.; 3: p. 155-184.

T

- Tomaselli L. 2002. Morphology, Ultrastructure and Taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*, in: Vonshak A. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) *Physiology, Cell Biology and Biotechnology*, Taylor & Francis, London, pp. 1-17

V

Vardaka, E., K. A. Kormas, M. Katsiapi, S. Genitsaris, ET M. Moustaka-Gouni. 2016. "Molecular Diversity of Bacteria in Commercially Available "Spirulina" Food Supplements." *Peerj* 2016

Verhulst P.F., 1838. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Mathematical Physics*, 10: 113-121.

VIDALO J. L., 2015. Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 /Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.

Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology, and biotechnology*. London : Bristol, PA: Taylor & Francis;

W

Watanabe, Y., de la Noüe, J. and Hall, D. O. 1995. "Photosynthetic performance of a helical tubular photobioreactor incorporating the Cyanobacterium *Spirulina platensis*." *Biotechnology and Bioengineering* 47 (2). 261-269.

Wilde, E. W., & Benemann, J. R. 1993. Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotechnology advances*, 11(4), 781-812

Y

Yang J., Lia X., Hua H., Zhang X., Yua Y. & Chen Y., 2011. Growth and lipid accumulation properties of a freshwater microalga, *Chlorella ellipsoidea* YJ1, in domestic secondary effluents. *Applied Energy* 88: 3295-3299.

Z

Zarrouk C, 1966. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. These de doctorat, Paris.