

République Algérienne Démocratique 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 D'AGRONOMIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Mme LAHOUCINE Halima Amina**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité: Biotechnologie Alimentaire**

THÈME

**Etude de l'impact de l'incorporation de la  
Spiruline sur la qualité organoleptique et  
physicochimique de la Mayonnaise**

Soutenue publiquement le 11/07/2019

DEVANT LE JURY

Président	TAHRI MILOUD	MCB	U. Mostaganem
Examinatrice	SISBANE ISMAHANE	MAA	U. Mostaganem
Encadreur	DAHLOUM LHOUARI.	MCB	U. Mostaganem

*Thème Réalisé au laboratoire de Biochimie et de Microbiologie à l'Université de Mostaganem.*

2018 - 2019

# Remerciements



Mes remerciements vont tout d'abord :

- A *Dieu*, tout puissant, source de toute connaissance.
- A mon directeur de mémoire, **Mr. DAHLOUM LH.**, Docteur à l'université de Mostaganem, pour son aide, ses conseils avisés et éclairés tout au long de la rédaction de ce mémoire.
- A mon con-encadreur **Mr. BENOTMANE K**, Ingénieur d'état en génie biologique et titulaire d'un diplôme de Master en production et transformation laitière, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses connaissances qui ont contribué à alimenter ma réflexion afin de mener ce travail à bon port.
- Aux premiers responsables de la structure d'accueil (laboratoire de Biochimie et de microbiologie de l'Université de Mostaganem) pour leur soutien technique et leur bonne humeur.
- Aux membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à cette étude en acceptant d'examiner et d'évaluer ce travail, et plus particulièrement **Mr. TAHRI M.**, Président du jury et Docteur à l'université de Mostaganem, ainsi que **Mme. SISBENE I.**, Maître assistante à l'université de Mostaganem, qui a bien voulu examiner ce travail.
- A l'équipe pédagogique de l'établissement, pour la richesse et la qualité des enseignements fournis tout au long de l'année.
- Ma gratitude va aussi vers les ami(e)s et collègues d'études qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche. Ici un petit clin d'œil à mes amis : **BENOTMANE K et ARABI A.**
- Et pour finir, j'adresse un grand remerciement à ceux qui ont fait mon bonheur, ma mère, mon père, mon mari, mes enfants, mes frères et mes sœurs.

*Amina*

# *Dédicaces*



*Je dédie ce modeste travail*

*A mes chères Parents :*

Sources de mes joies et secrets de ma force.

*A mon cher mari :*

Pour son appui et ses encouragements.

*A ma famille :*

Pour leur soutien et dévouement.

*A mes tous mes ami(e)s :*

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble.

*& A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

Lahoucine Halima Amina

## Liste des tableaux

---

Tableau 1 : Principaux secteurs d'application utilisant des émulsions .....	17
Tableau 2 : Résultats d'absorbance des différentes concentrations d'acide gallique exprimées en µg/ml ...	36
Tableau 3 : Valeurs des diamètres de lyse pour chacune des souches étudiées exprimées en millimètres ...	42
Tableau 4 : Diamètre des zones d'inhibition de la spiruline vis-à-vis <i>E. coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
Tableau 5 : Valeurs moyennes des diamètres de zones d'inhibition des différents extraits de spiruline contre quelques bactéries tests (Gram positive et Gram négative).....	44
Tableau 6 : Valeurs du pH des 03 formules de Mayonnaise préparées .....	46
Tableau 7 : Résultats de l'analyse sensorielle des trois types de Mayonnaise.....	58

## Liste des figures

---

Figure 1 : Les différents aspects de la spiruline .....	2
Figure 2 : Répartition géographique de la spiruline .....	3
Figure 3 : Cycle biologique de reproduction de la spiruline .....	4
Figure 4 : Composition chimique de la spiruline .....	5
Figure 5 : Représentation schématique d'une émulsion.....	12
Figure 6 : Les divers types d'émulsions : <b>a.</b> E. directe, <b>b.</b> E. inverse, <b>c.</b> E. multiple à phase eau continue ..	13
Figure 7 : Schéma simplifié d'un tensioactif .....	14
Figure 8 : Rôle des émulsifiants dans la stabilisation des émulsions .....	15
Figure 9 : Aspect et texture d'une sauce froide de type mayonnaise .....	17
Figure 10 : Composition de la mayonnaise (en%) .....	18
Figure 11 : Diagramme de fabrication de la mayonnaise .....	20
Figure 12 : Poudre de spiruline.....	23
Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	25
Figure 14 : pH mètre.....	32
Figure 15 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>S. platensis</i> .....	34
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	35
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (exprimée en µg/ml) .....	36
Figure 18 : Aspect macroscopique des deux souches, <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i> sur milieu Chapman et Mc-conckey .....	38
Figure 19 : Aspect microscopique des deux souches, <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i> après coloration de Gram.....	39
Figure 20 : Résultat du test de catalase .....	39
Figure 21 : Résultats du test d'antibiogramme d' <i>E. coli</i> et de <i>S. aureus</i> pour le choix du témoin positif ....	41
Figure 22 : Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> .....	43
Figure 23 : Les échantillons expérimentaux de Mayonnaises préparées .....	45
Figure 24 : Probabilité critique associée au test F pour l'effet du produit sur chaque descripteur .....	59
Figure 25 : Note moyenne obtenue du test hédonique par produit par descripteur.....	59
Figure 26 : Présentation des 3 produits de Mayonnaise sur le 1 <sup>er</sup> plan factoriel.....	60

## Liste des abréviations

---

<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>BaCl<sub>2</sub> :</b>	Chlorure de Baryum
<b>BN :</b>	Bouillon nutritif
<b>°C :</b>	Degré Celsius
<b>CMV :</b>	Cytomégalovirus
<b>°D :</b>	Degré dornic
<b>DMSO :</b>	Diméthylsulfoxyde
<b>DO :</b>	Densité optique
<b>DPPH :</b>	1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle
<b>E :</b>	<i>Escherichia</i>
<b>EAG :</b>	Equivalent d'acide gallique
<b>g :</b>	Gramme
<b>G + C :</b>	Guanine + Cytosine
<b>GN :</b>	Gélose nutritive
<b>pH :</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>h :</b>	Heure
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> :</b>	Acide sulfurique
<b>HSV :</b>	Herpès Simplex Virus
<b>K :</b>	<i>Klebsiella</i>
<b>Kg :</b>	Kilogramme
<b>µg :</b>	Microgramme
<b>µl :</b>	Microlitre
<b>µm :</b>	Micromètre
<b>mg :</b>	Milligramme
<b>ml :</b>	Millilitre
<b>mm :</b>	Millimètre
<b>min :</b>	Minutes
<b>MH :</b>	Mueller Hinton
<b>N :</b>	Normal
<b>nm :</b>	Nanomètre
<b>NaOH :</b>	Hydroxyde de Sodium
<b>P :</b>	<i>Pseudomonas</i>
<b>% :</b>	Pour cent (pourcentage)
<b>SOD :</b>	Superoxyde dismutase
<b>Staph ou S. :</b>	<i>Staphylococcus</i>
<b>UV :</b>	Ultra-violet
<b>≠ :</b>	Différentes
<b>[ ] :</b>	Concentration

# Table des Matières

---

Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Introduction	1
--------------	---

## Partie bibliographique

### **Chapitre 1** : La spiruline

1. La spiruline	2
1.1. Définition et principales caractéristiques	2
1.2. Habitat et répartition géographique	2
1.3. Classification taxonomique	3
1.4. Cycle biologique de reproduction	4
1.5. Composition et valeur nutritionnelle	5
1.5.1. Les protéines	5
1.5.2. Les glucides	5
1.5.3. Les lipides	6
1.5.4. Les minéraux	6
1.5.5. Les vitamines	6
1.5.6. Les enzymes	6
1.5.7. Les pigments	7
1.5.7.1. La chlorophylle	7
1.5.7.2. La phycocyanine	7
1.5.7.3. La Béta-carotène	7
1.6. Activités biologiques de la spiruline	8
1.6.1. Activité antimicrobienne	8
1.6.2. Activité antioxydante	8
1.6.3. Activité antivirale	8
1.6.4. Activité anticancéreuse	9
1.7. Principales applications de la spiruline	9
1.7.1. En alimentation humaine	9
1.7.2. En alimentation animale	10
1.7.3. En cosmétique	10
1.7.4. En thérapeutique	11

### **Chapitre 2** : Les émulsions

1. Les émulsions	12
1.1. Définition	12
1.2. Composition	12
1.3. Les divers types d'émulsions	13
2. Les émulsifiants	14
2.1. Rôle des émulsifiants	15

2.2. Les différents types d'émulsifiants	15
3. Applications industrielles des émulsions	16
4. Exemple d'une émulsion alimentaire	17
4.1. La mayonnaise	17
4.1.1. Définition	17
4.1.2. Composition et rôle des principaux ingrédients	18
4.1.3. Processus de fabrication d'une mayonnaise	19
a- Préparation de la phase grasse	19
b- Préparation de la phase aqueuse	19
4.1.4. Paramètres influençant la réussite d'une mayonnaise	20
▪ La température	20
▪ La vitesse de mixage	20
▪ Le mode de versement de l'huile	21
▪ Les ustensiles	21
4.1.5. Conservation et contrôle qualité de la mayonnaise	21
• La conservation microbiologique	21
• La conservation chimique	21

## Partie expérimentale

### Matériel & Méthodes

1. Matériel et méthodes	23
1.1. Objectif de l'étude	23
1.2. Origine de la matière végétale	23
1.3. Réactifs et milieux de cultures utilisés	24
1.3.1. Réactifs chimiques	24
1.3.2. Milieux de cultures	24
1.4. Analyses physico-chimiques	24
1.4.1. Détermination de l'activité antioxydante de la spiruline	24
1.4.1.1. Test du DPPH	24
✓ Mode opératoire	25
- Préparation de l'extrait aqueux	25
- Mesure de l'activité	25
1.4.2. Dosage des polyphénols totaux	26
✓ Mode opératoire	27
1.5. Analyses microbiologiques	27
1.5.1. Détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline	27
➤ Revivification des souches	28
➤ Purification des souches	28
➤ Conservation des souches	28
➤ Tests d'orientation pour la caractérisation des souches isolées	29
- Aspect macroscopique des cultures	29
- Etude des caractères morphologiques	29
- Etude de quelques caractères biochimiques et physiologiques	29
▪ Test de catalase	29
▪ Recherche de l'oxydase	29
1.5.1.1. Détermination de l'activité antibactérienne	30

✓ Préparation de l'extrait de Spiruline	30
✓ Préparation de l'inoculum bactérien	30
• Détermination de l'activité antibactérienne	30
1.6. Préparation de la Mayonnaise	31
1.6.1. Ingrédients alimentaires	31
• Mode opératoire	31
1.7. Analyses physicochimiques de la Mayonnaise	32
1.7.1. Mesure du pH	32
1.7.2. Acidité titrable	32
• Mode opératoire	32

## **Résultats & discussion**

1. Résultats & discussion	34
1.1. Analyses physico-chimiques de la spiruline	34
1.1.1. L'activité antioxydante	34
1.1.2. Dosage des polyphénols totaux	36
1.2. Analyses microbiologiques	37
1.2.1. Revivification et purification des souches étudiées	37
• Caractères cultureux	37
• Caractères morphologiques	38
• Test de catalase	39
• Test de l'oxydase	39
1.2.2. Détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline	40
• Activité antibactérienne de la spiruline	42
1.3. Préparation des échantillons expérimentaux de Mayonnaise	45
1.4. Analyse sensorielle de la Mayonnaise	45
1.5. Analyses physicochimiques de la mayonnaise	45
1.5.1. pH et acidité titrable	45
 Conclusion	 46
 Références bibliographiques	 47
 Annexes	 52

# Introduction

Les algues alimentaires encore méconnues en comparaison des plantes terrestres, attirent de plus en plus la curiosité et l'intérêt des consommateurs et des médias. Concentrées d'éléments nutritifs de qualité, indispensables à notre corps, elles recèlent des propriétés intéressantes tant pour l'alimentation que pour l'industrie agroalimentaire (Le Bras et al., 2016).

Considérées comme des ressources alimentaires non conventionnelles, plusieurs d'entre elles ont été adoptées par le consommateur. Aujourd'hui la Spiruline est au menu.

Véritable concentré de vitamines, de fer, d'antioxydants, de protéines végétales énergisantes, d'oligoéléments, de sels minéraux et bien d'autres éléments, elle possède la composition la plus complète comparativement à tous les autres végétaux et sources animales.

Selon l'UNESCO, c'est « l'aliment idéal et le plus complet de demain » ; pour l'OMS « il s'agit du meilleur aliment pour l'humanité au 21<sup>ème</sup> siècle » (Manet, 2016).

De ces qualités nutritionnelles exceptionnelles, il est devenu évident que les chercheurs s'y sont vite intéressés. Des expériences scientifiques sur sa culture ont été menées et plusieurs effets bénéfiques de sa composition ont été prouvés.

Aujourd'hui, la spiruline nous est proposée dans l'alimentation humaine comme complément alimentaire de haute qualité, comme aliment thérapeutique dans le traitement de certaines maladies, comme énergétique et nutritionnel pour les sportifs... etc.

Dans cette optique, s'est vu naître notre intérêt à cette micro-algue par ce travail qui donne à peu près une vision synthétique de ce potentiel à travers les objectifs essentiellement assignés dans ce contexte, à savoir :

- L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de la spiruline ;
- Le dosage des polyphénols contenus dans cette matière ;
- La détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline vis-à-vis quelques souches pathogènes ;
- Et conclure par étudier l'effet de l'ajout de la spiruline sur les caractéristiques organoleptiques et physicochimiques de la Mayonnaise.

La première partie de ce manuscrit (revue bibliographique) permettra de découvrir la spiruline, en évoquant ses principales caractéristiques (habitat, classification, composition et cycle de reproduction), ses principales activités biologiques et principaux

domaines d'application. S'en suivra une synthèse rappelant quelques principes sur les émulsions et émulsifiants avec comme exemple une sauce froide de type Mayonnaise avant d'exposer la partie expérimentale qui consiste à valoriser quelques propriétés physicochimiques et microbiologiques de la spiruline à travers les quelques analyses effectuées et les résultats obtenus.

Un troisième volet expérimental sera par la suite alloué à l'impact d'incorporation de la spiruline sur la qualité organoleptique et microbiologique des échantillons de Mayonnaise préparés, pour conclure par un résumé qui englobe les résultats de notre travail et les perspectives pour des recherches avenir.

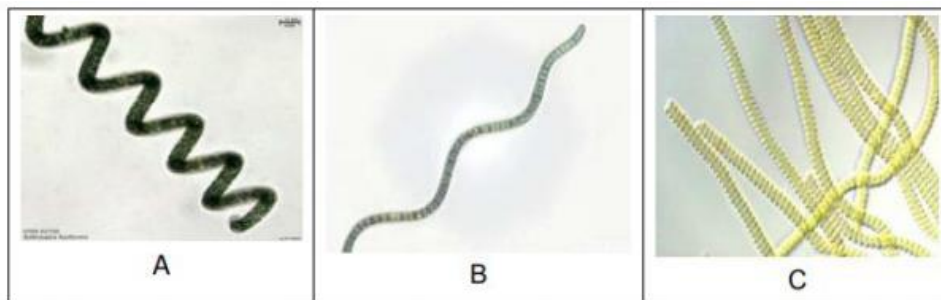
## 1. La spiruline

### 1.1. Définition et principales caractéristiques

La spiruline est une cyanobactérie filamenteuse, faisant partie des algues bleu-vert de type procaryote. Reconnaisable à la caractéristique morphologique du genre, cette micro-algue à caractère multicellulaire, se multiplie dès que la température de l'eau dépasse 30 °C. C'est un organisme symbiotique, autotrophe, qui se nourrit uniquement de minéraux contenus dans son milieu aqueux (Vonshak, 2002).

Se présentant généralement sous différentes formes, les spirulines sont le plus souvent enroulées en spires (Figure 1A), parfois ondulées (Figure 1B) ou de forme droite (Figure 1C) (Vicente, 2012). Cette particularité de forme est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (Charpy et *al.*, 2008).

Avec une longueur moyenne de 250 µm quand elle possède 7 spires, le diamètre du filament ou du trichome formé est d'environ 10µm (Sall et *al.*, 1999). La forme hélicoïdale qui lui donne l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline » (Charpy et *al.*, 2008).



**Figure 1.** Les différents aspects de la spiruline.

Le système pigmentaire photosynthétique de la spiruline est constitué de phycocyanine de couleur bleue, de chlorophylle et de caroténoïde. Certaines spirulines contiennent la phycoérythrine, un autre pigment donnant une couleur rouge ou rose à cette micro-algue (Hajati et Zaghari, 2019).

### 1.2. Habitat et répartition géographique

La plupart des spirulines se développent dans des eaux chaudes, alcalines et fortement minéralisées (richesses en nutriments azotés et phosphorés), excluant ainsi la plupart des autres microorganismes. Elle s'observe plus communément dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (Goulambasse, 2018). 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 (Figure 2) (Ahounou, 2018).

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière laisse voir cet organisme pousser même dans des lacs volcaniques (lac Quiliotoa, en Equateur) et des endroits désertiques (région de Tamanrasset) aux points de ramassage d'eau provenant occasionnellement des montagnes (Elyah, 2003).



Figure 2. Répartition géographique de la spiruline.

### 1.3. Classification taxonomique

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs. Considérer comme une algue à l'origine, une désignation finale en tant que cyanobactérie a été adopté et accepté par la suite pour figurer au «Bergey's Manual of Determinative Bacteriology» (Goulambasse, 2018).

D'un point de vue taxonomique, la spiruline s'y verra appartenir par les systématiciens au :

Règne des *Monera*

Groupe ou Sous Règne des *Procaryotes*

Embranchement des *Cyanophyta*

Classe des *Cyanophyceae*

Ordre des *Nostocales* (ou *Oscillatoriales*)

Famille des *Oscillatoriaceae*

Genre *Oscillatoria*

Sous genre *Spirulina* ou *Arthrospira* (Charpy *et al.*, 2008).

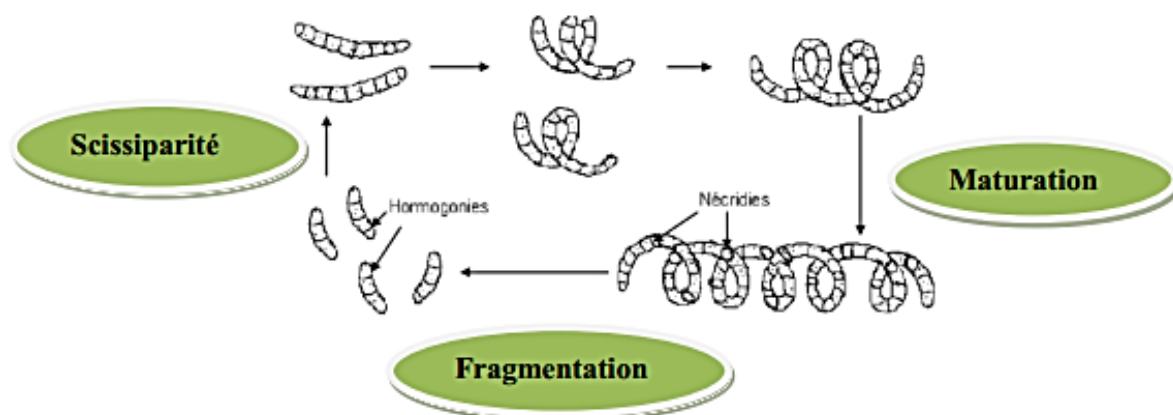
Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulina platensis*, originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* originaire d'Amérique centrale (Sguera, 2008).

Néanmoins, et plus récemment, l'idée de séparer les deux groupes *Spirulina* et *Arthrospira* a été partagée et affirmée par plusieurs auteurs sur la base de nombreuses caractéristiques telles que : l'hélicité et la taille du trichome, la visibilité sous microscope, la structure de la paroi cellulaire et des pores, les thylakoïdes, la motilité et la teneur en G + C (Vonshak, 2002).

#### 1.4. Cycle biologique de reproduction

La spiruline se reproduit suivant un mode végétatif, une multiplication asexuée qui suit le principe de la bipartition par scission simple. C'est donc une segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes.

- Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécriides, des cellules ayant un aspect concave.
- Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécriides 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 3) (Manet, 2016).



**Figure 3.** Cycle biologique de reproduction de la spiruline (Charpy *et al.*, 2008).

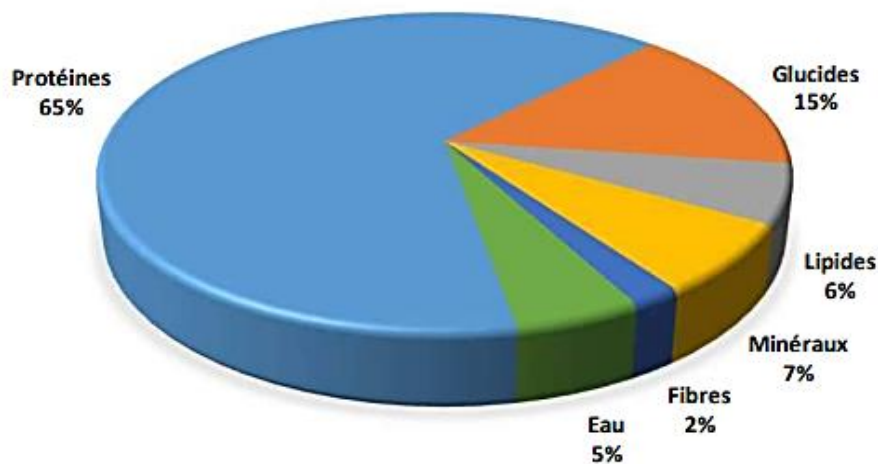
## 1.5. Composition et valeur nutritionnelle

### 1.5.1. Les protéines

La spiruline comprend dans sa composition entre 60 et 70% de protéines, 15% de glucides, 6% de lipides, 7% de minéraux et de 3 à 6% d'eau (Figure 4) (Niangoren, 2017). Les protéines présentes sont considérées comme le principal atout de cette algue, car aucun aliment n'en concentre autant (Barth et Léo, 2019).

Cependant Cette composition peut varier selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique ainsi que plusieurs autres paramètres (Niangoren, 2017).

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, donc de haute qualité, car tous les acides aminés essentiels y figurent (Jourdan, 2006 ; Gutierrez et *al.*, 2015). Elles sont quasiment bio-assimilables à 100 %, ce qui signifie que le corps peut presque toutes les utiliser. C'est ce qui fait en partie la richesse nutritionnelle de cette micro-algue (Barth et Léo, 2019).



**Figure 4.** Composition chimique de la spiruline (Lecointre, 2017).

### 1.5.2. Les glucides

Les glucides présents à hauteur d'environ 15% dans la spiruline sèche, sont principalement apportés sous forme de glycogène et de rhamnose. Le glucose, le fructose, le saccharose et les quelques polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol, ne sont présents qu'en très faibles quantités (Niangoran, 2017).

### **1.5.3. Les lipides**

Les lipides de la spiruline qui représentent environ 5 à 6% de son poids total (Sall et *al.*, 1999) dévoilent un équilibre optimal entre les oméga-3 et 6, garant d'une bonne santé cardiovasculaire. On comprendra donc l'intérêt de l'apport direct en acide  $\alpha$  et  $\gamma$  linoléiques présent à 40% dans les acides gras essentiels de la spiruline (Michka, 2005).

### **1.5.4. Les minéraux**

Outre l'importante concentration de la spiruline en différents macronutriments, elle contient aussi beaucoup de micronutriments tels que des minéraux, des vitamines et des pigments fortement antioxydants (Lecointre, 2017).

Les minéraux spécialement intéressants dans la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium (Dansou, 2002).

La haute teneur de la spiruline en fer (minéral essentiellement présent dans les aliments d'origine animale comme la viande, les abats et le poisson) la rend particulièrement populaire auprès des végétariens, sportifs, femmes enceintes et adolescents en phase de croissance (Michka, 2005).

### **1.5.5. Les vitamines**

La spiruline offre de nombreuses vitamines qui contribuent au bon fonctionnement de notre organisme : des vitamines du groupe B (en particulier, vitamines B1, B2 et B12) qui participent au métabolisme énergétique et au fonctionnement du système nerveux et la  $\beta$  carotène, précurseur de la vitamine A, qui joue un rôle essentiel dans la vision, la reproduction des cellules et le fonctionnement normal du système immunitaire (Miranda, 1998).

La vitamine B12, la plus fortement représentée dans la spiruline, est de loin la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande, car aucun végétal courant n'en contient (La spiruline est 4 fois plus riche que le foie cru, longtemps considérée comme meilleure source de vitamine B12) (Jourdan, 2006).

### **1.5.6. Les enzymes**

De nombreuses enzymes entrent aussi dans la composition de la spiruline, sortes de « facilitateurs » biologiques, dont l'exceptionnel SOD (superoxyde dismutase), qui représente une arme majeure contre l'oxydation ou le vieillissement cellulaire (Ahounou, 2018).

### **1.5.7. Les pigments**

Les trois principaux pigments, contenus dans la spiruline, responsables de sa couleur sont la chlorophylle, la phycocyanine et la  $\beta$  carotène (Sguera, 2008).

#### **1.5.7.1. La chlorophylle**

Le taux de chlorophylle contenu dans la spiruline est d'environ 1%, l'un des plus élevés que l'on puisse trouver dans la nature (Ahounou, 2018). Sa structure étroitement apparentée à celle de l'hémoglobine des mammifères lui confère parfois l'appellation de "sang vert".

C'est à ce pigment photosynthétique que la spiruline doit sa couleur verte : bien que ce ne soit pas le pigment le plus important en quantité, son fort pouvoir colorant l'emporte sur les autres.

Faisant l'objet de nombreuses études, la chlorophylle a démontré plusieurs qualités. Ce pigment contribue à rétablir l'équilibre acido-basique, améliore le travail cardiaque, régule le transit intestinal, augmente le taux des globules rouges et stimule la cicatrisation interne comme externe (Casal, 2019).

#### **1.5.7.2. La phycocyanine**

La phycocyanine, quant à lui, est le plus exceptionnel pigment faisant partie de la composition de la spiruline (Sguera, 2008). Responsable de sa couleur bleutée, c'est le plus puissant antioxydant et anti-radicalaire que l'on puisse trouver. Véritable booster de nos défenses naturelles, il stimule la formation des globules rouges, favorise l'activité musculaire, inhibe la croissance des cellules cancéreuses et détoxifie l'organisme de tous produits chimiques nuisibles à notre corps (Shmitz, 2014).

#### **1.5.7.3. La Béta-carotène**

La bêta-carotène, pigment orange, précurseur de la vitamine A, aussi présent dans la spiruline en grande quantité, joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et dans les défenses immunitaires (Charpy et *al.*, 2008). Possédant de nombreuses propriétés anti-antioxydantes pour lutter contre le vieillissement des cellules, il permet aussi de réduire les risques de cancer, favoriser la cicatrisation des plaies et protéger la peau des agressions extérieures (Perraut, 2017).

## 1.6. Activités biologiques de la spiruline

### 1.6.1. Activité antimicrobienne

Certaines études préliminaires *in vitro* d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (*E. coli* et *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 (Al-ghanayem, 2017).

Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance anti-bactérienne 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).

### 1.6.2. Activité antioxydante

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, la super oxyde 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).

### 1.6.3. Activité antivirale

La richesse de la spiruline en  $\beta$ -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, 2011).

L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a 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 cytomégalo virus 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, 2011).

#### **1.6.4. Activité anticancéreuse**

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que la bêta-carotène, un des antioxydants implanté 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).

### **1.7. Principales applications de la spiruline**

#### **1.7.1. En 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 conseil, 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 (Vidal, 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).

### **1.7.2. En 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).

### **1.7.3. En cosmétique**

L'analyse quantitative et qualitative des éléments qui composent la spiruline furent formelles. Autant d'actifs naturels retrouvés (acides aminés, oligoéléments, anti oxydants, 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 de 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).

#### **1.7.4. En 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) ;
- Et 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 ».

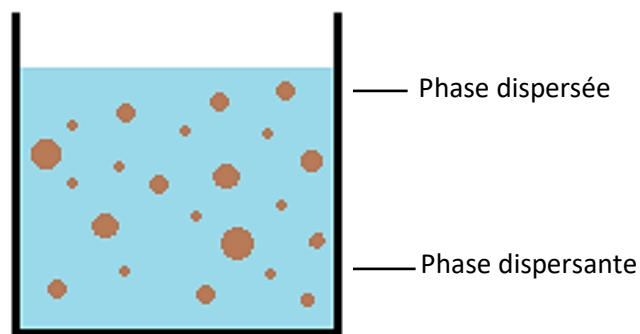
## 1. Les émulsions

### 1.1. Définition

Le terme émulsion désigne un système colloïdal comprenant au moins deux substances liquides non miscibles (habituellement l'eau et l'huile) (Bouyer, 2011). C'est un mélange de solutions lipophile et hydrophile se caractérisant par la présence de deux phases distinctes dont l'une est dispersée dans l'autre (Michaux, 2018). On appelle phase dispersée ou phase discontinue, le liquide formant des gouttelettes, alors que l'on désigne le second fluide comme étant la phase dispersante ou la phase continue (Figure 5) (Pierat, 2010).

Conventionnellement, les émulsions sont thermodynamiquement instables, qui se séparent plus ou moins rapidement, en deux phases (On parle de système hors équilibre). En raison de cette instabilité, ces systèmes nécessitent toujours la présence d'un troisième agent, appelé émulsifiant ou émulsionnant (Novalés, 2009) qui va abaisser la tension interfaciale et permettre ainsi de limiter cinétiquement la séparation des deux phases.

La surface de contact entre les deux liquides à l'interface a une importance prépondérante dans la stabilité physique de ces systèmes (Fardet et *al.*, 2013).



**Figure 5.** Représentation schématique d'une émulsion

### 1.2. Composition

Une émulsion est composée d'une phase aqueuse ou hydrophile, d'une phase huileuse, aussi dite grasse, organique ou lipophile et d'un émulsifiant (agent tensio-actif) qui lit ces deux dernières (les deux phases) entre elles. Le tensioactif est le constituant clé, sans lui, il est impossible de former une émulsion (Canselier et Poux, 2004).

La phase aqueuse contient l'eau et divers composants hydrosolubles (ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc.). La phase huileuse quand elle comporte des

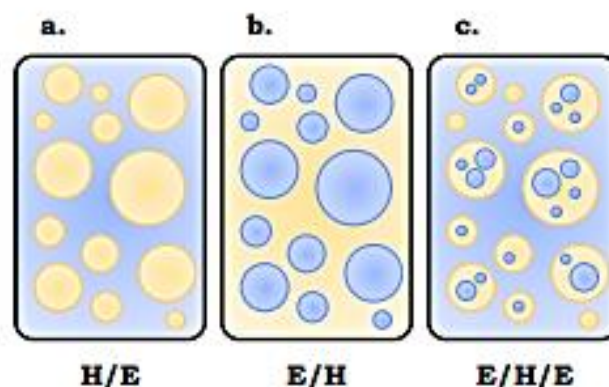
huiles, des cires et des graisses (liquide, solide ou semi-solide respectivement) d'origine végétale, animale ou minérale.

En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique ou pharmaceutique) des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du goût, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, etc.) (Doumeix, 2011).

### 1.3. Les divers types d'émulsions

Suivant la nature de la phase dispersée, on définit deux types d'émulsion : des émulsions simples et des émulsions multiples (Figure 6) (Pierat, 2010).

- Les émulsions simples sont constituées d'une phase dispersée dans une phase continue, et sont de type « huile-dans-eau » (H/E) si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé (d'ordinaire, il s'agit d'eau ou d'une solution aqueuse) (Figure 6a). Dans le cas contraire, cette émulsion est appelée « eau-dans-huile » (E/H) ou dite émulsion inverse. (Figure 6b). Les émulsions alimentaires (telles que la mayonnaise et les sauces) sont généralement des émulsions de type huile dans eau (H/E) (Fardet et *al.*, 2013).
- Les émulsions multiples, quant à elles, consistent en une émulsion simple dispersée à son tour dans une phase continue externe (elles sont dites aussi émulsions d'émulsions). Elles sont alors de type eau dans huile dans eau (E/H/E) (Figures 6c) ou huile dans eau dans huile (H/E/H) (Canselier and Poux, 2004). Les émulsions multiples sont surtout utilisées en pharmacie et en cosmétique. Leur formulation est plus complexe que celle des émulsions simples (Doumeix, 2011).



**Figure 6.** Les divers types d'émulsions : **a.** émulsion directe, **b.** émulsion inverse, **c.** émulsion multiple à phase eau continue.

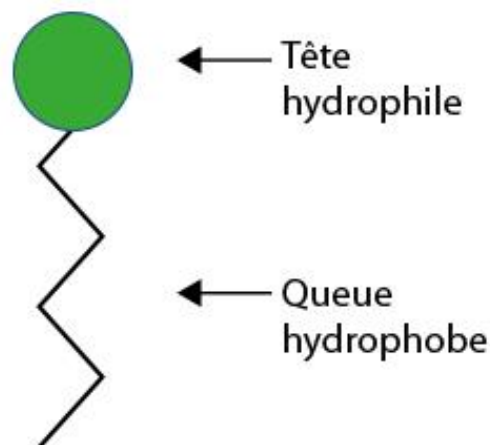
En fonction aussi, de la taille moyenne des gouttelettes on distingue des émulsions plutôt grossières, appelées émulsions ou macro-émulsions et des émulsions plus fines, submicroniques, appelées mini ou nano-émulsions.

Une autre catégorie, les micro-émulsions, est présentée à part car ce ne sont pas réellement des systèmes biphasiques. De nombreux auteurs les classent cependant dans les émulsions conventionnelles mais en mentionnant une taille inférieure (de 10 à 100 nm) (Doumeix, 2011).

## 2. Les émulsifiants

Les émulsifiants, nommés quelquefois émulsionnants, sont des produits issus directement ou indirectement des corps gras alimentaires, dans lesquels ils sont présents.

Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, constituées de deux parties distinctes : une partie lipophile composée généralement d'une ou plusieurs chaînes hydrocarbonées aliphatiques ayant une affinité pour la phase huileuse et une partie hydrophile représentée par un ou plusieurs groupements polaires, ioniques ou non ioniques présentant une affinité pour la phase aqueuse (Figure 7) (Bouyer, 2011).



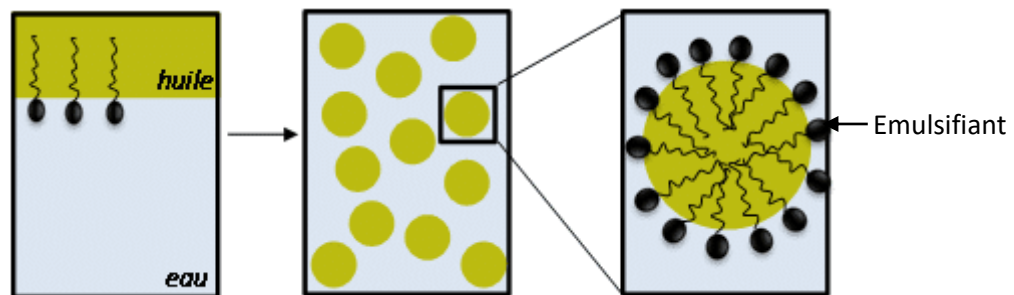
**Figure 7.** Schéma simplifié d'un tensioactif

Ces deux fonctions d'une même molécule permettant des liaisons, assurent le mélange intime et stable de substances qui, sans cela, ne seraient pas miscibles entre elles.

## 2.1. Rôle des émulsifiants

La dualité de polarité des émulsifiants au sein de leur structure confère à ces derniers une capacité à se placer préférentiellement entre l'huile et l'eau (interface). Ainsi dans une émulsion, les émulsifiants vont se placer tout autour des gouttelettes et l'émulsion va ainsi gagner en stabilité (Figure 8) (Leroux, 1998).

En réalité, ce placement aux interfaces permet aux émulsifiants de générer des interactions répulsives entre les gouttes ce qui empêche leurs recombinaisons et donc un retour à l'état biphasique. Ces interactions peuvent être de différentes natures. En effet, si la tête hydrophile de l'émulsifiant est chargée, la répulsion des gouttes se fera par un phénomène électrostatique. Par ailleurs, si l'émulsifiant est de grande taille (protéine), la répulsion s'effectuera plus par phénomène stérique (Serieye, 2012).



**Figure 8.** Rôle des émulsifiants dans la stabilisation des émulsions

## 2.2. Les différents types d'émulsifiants

Il existe une grande variété d'émulsifiants utilisés dans les émulsions alimentaires. Globalement, on distingue deux grandes catégories d'émulsifiants : les émulsifiants de faible masse moléculaire (ou tensioactifs) et les macromolécules (ou biopolymères).

- ✓ Les tensioactifs sont les émulsifiants les plus utilisés et les mieux décrits dans la littérature. Leur petite taille leur confère une adsorption rapide et réversible à l'interface eau – huile, mais ne permet qu'une stabilisation stérique limitée. Pour les tensioactifs ioniques, une stabilisation électrostatique s'ajoute à la stabilisation stérique (Protat, 2017).
- ✓ Dans le cas des émulsions de Pickering, la stabilité est assurée par la présence de particules solides fortement ancrées à l'interface. Les matériaux obtenus sont beaucoup plus stables que leurs homologues classiques, stabilisés par des molécules tensioactives, et possèdent une plus grande élasticité interfaciale. Dans le cas classique

des émulsions stabilisées par des molécules tensioactives, les interfaces sont "liquides" tandis que pour les émulsions de Pickering, la présence des particules rend l'interface "solide" et très robuste. Ces systèmes connaissent actuellement un regain d'intérêt, notamment pour des raisons écologiques, afin de limiter le recours aux tensioactifs de synthèse (Perrault, 2013).

- ✓ Les polymères sont également des émulsifiants efficaces. Nous distinguons les homopolymères, formés à partir d'un seul type de monomère et des copolymères composés d'au moins deux monomères différents. Contrairement aux tensioactifs classiques, les polymères créent une répulsion stérique importante entre les gouttes, ce qui permet de stabiliser des émulsions sur des temps long avec des concentrations faibles en émulsifiant. De plus, grâce à leur masse molaire élevée, ils sont généralement considérés comme moins toxiques que les tensioactifs (Protat, 2017).
- ✓ Enfin, les émulsions qui utilisent les propriétés émulsifiantes des protéines sont souvent très stables dans le temps grâce à la bonne répulsion stérique et électrostatique garantie par ces macromolécules (Girard, 2000).

### **3. Applications industrielles des émulsions**

Les émulsions peuvent être trouvées dans de nombreuses applications industrielles. Elles sont vues en cosmétiques (laits, crèmes), en cuisines (sauces, crèmes glacées), en galénique (pommades, crèmes), en peinture (peinture sans odeur), dans l'industrie routière (bitume en émulsion), dans le traitement phytosanitaire (pesticides), dans la détergence (adoucisseurs textiles), dans la sidérurgie et le laminage (lubrification), dans le bâtiment (mastics silicones) et dans la formation de dépôts divers (imprimerie, adhésifs et glaçage du papier) (Bibette, 1996). Une grande étendue d'utilisation qui permet de comprendre leur utilité au quotidien.

Le tableau ci-dessous liste les principaux secteurs d'application utilisant des émulsions.

**Tableau 1.** Principaux secteurs d'application utilisant des émulsions

Secteur d'application	Exemples
<b>Alimentation</b>	Vinaigrette domestique : E/H ; stabilisée : H/E, $d_m$ (diamètre moyen des gouttelettes) = $20\mu m$ ; mayonnaise (très faible volume de phase aqueuse continue et tensioactifs : lécithines du jaune d'œuf) : H/E, $d_m = 3$ à $300\mu m$ selon la nature de l'émulsifiant et la vitesse d'agitation ; beurre et margarines : émulsions figées E/H ; crème glacée : émulsions H/E aérées (foisonnées).
<b>Cosmétique</b>	Shampoings (phase huileuse : alcool gras $C_{16} - C_{40}$ , huile de ricin hydrogénée, dérivés de lanoline...), crèmes, lotions.
<b>Produits d'entretien</b>	Cires nettoyantes.
<b>Pharmacie, médecine</b>	Pommades, crèmes, lotions, vaccins, etc.
<b>Biotechnologie, traitement des eaux</b>	Destruction des mousses.
<b>Textile</b>	Dégraissage, ensimage, apprêtage, encollage, impression, imperméabilisation.
<b>Tannerie, mégisserie</b>	Nourriture, habillage, huilage, imperméabilisation du cuir.
<b>Papeterie</b>	Couchage, désaération des pâtes, désencrage.
<b>peintures</b>	Emulsions alkyde, émulsions-suspensions (suspo-émulsions)
<b>Pigments</b>	Formulations pour broyage, dispersion.
<b>Phytoprotecteur</b>	Concentrés émulsionnables de pesticides, fongicides, etc.
<b>Minéralurgie</b>	Attaque de minerais, broyage humide, flottation, etc.
<b>Lubrifiants</b>	Produits pour décapage, dégraissage, fluides de coupe pour usinage.
<b>Pétrole</b>	Boues de forage.
<b>Revêtements routiers</b>	Emulsions de bitume.
<b>Carburants</b>	« Aquazole » (émulsion d'eau dans du gazole).
<b>Explosifs</b>	Emulsion E/H mélangée à un gel aqueux (mines, etc.)

## 4. Exemple d'une émulsion alimentaire

### 4.1. La mayonnaise

#### 4.1.1. Définition

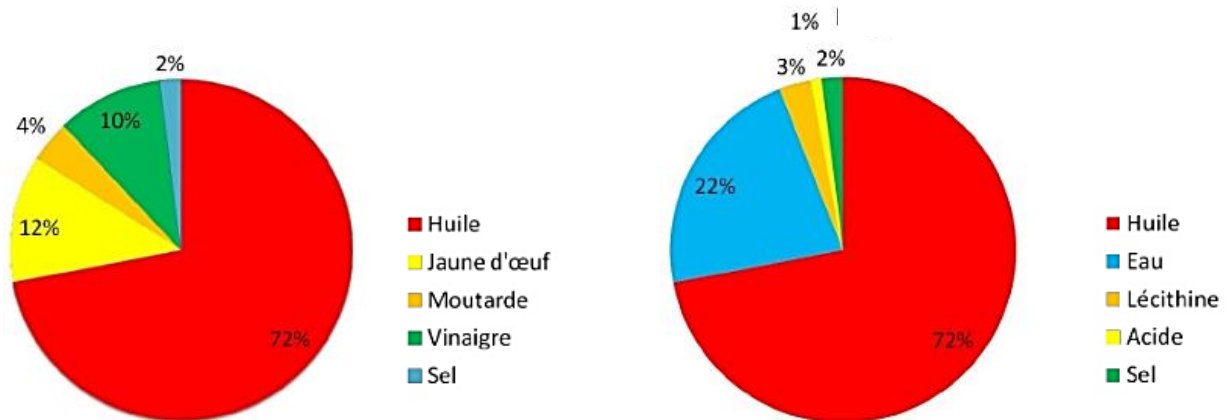
La mayonnaise est une sauce froide, jaune pâle, à base d'huile émulsionnée dans un mélange de jaune d'œuf et de vinaigre ou jus de citron. Présentant une texture épaisse et crémeuse (Figure 9), elle accompagne préférentiellement les préparations froides et constitue un élément indispensable à certains mets comme la salade russe et l'œuf mimosa. Elle est également associée aux frites et crudités (Ferhat et *al.*, 2016).



**Figure 9.** Aspect et texture d'une sauce froide de type mayonnaise

#### 4.1.2. Composition et rôle des principaux ingrédients

L'huile, le jaune d'œuf, le vinaigre et la moutarde sont les principaux acteurs (ingrédients) pour composer une mayonnaise (Figure 10).



**Figure 10.** Composition de la mayonnaise (en %)

- L'huile, indispensable composant au même titre que l'eau est un élément qu'on ne peut substituer. Il est essentiel pour la stabilité et la cohésion de la mayonnaise et peut être diversifiée en utilisant comme exemples : l'huile d'arachide, de tournesol, de noix, d'olive...etc. Cela influera uniquement sur le goût et la couleur mais ne perturbera pas "la prise" de la mayonnaise.
- Le jaune d'œuf, ingrédient aussi important que l'huile pour la préparation de cette sauce est essentiellement composée d'eau et de lipides. La cohésion interne entre ces deux molécules est assurée par la présence d'un autre constituant (présent dans le jaune d'œuf), appelée lécithine, une entité tensioactive qui va permettre la stabilisation de la mayonnaise lors de sa réalisation (Allegret et *al.*, 2008).
- La moutarde apporte également des molécules tensioactives qui facilitent la formation des micelles et jouera donc le même rôle de la lécithine. Elle assure également un apport d'eau au même titre que le vinaigre ou du jus de citron.
- L'ajout du vinaigre ou du jus de citron comme composés acides à cette émulsion va en plus du premier rôle déjà précité, augmenter la charge électrique des micelles ce qui les repoussent d'avantage, renforçant ainsi la stabilité de la mayonnaise.

- Le sel, contribue aussi par son addition à la stabilité de l'émulsion à travers les ions sodium ( $\text{Na}^+$ ) et chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) qui composent la molécule. Les ions sodium ont une charge opposée à celles des groupes phosphates des extrémités polaires des lécithines. Il va donc neutraliser ces groupes chargés négativement. Au contraire, les ions chlorure neutralisent les charges positives des atomes d'azote et c'est cette neutralisation qui va diminuer les répulsions électrostatiques entre les têtes polaires des micelles ce qui rend notre mayonnaise encore plus stable.

#### **4.1.3. Processus de fabrication d'une mayonnaise**

La production de mayonnaise peut être exécutée suivant un processus discontinu (par lot) adéquat pour une production à faible rendement (inférieure à 1000 kg /h) ou selon un processus continu qui convient parfaitement à une production supérieure (Valik, 2017).

Etant une émulsion, deux phases sont nécessaires à la fabrication de la mayonnaise. La formulation de ces phases se fait de la manière suivante :

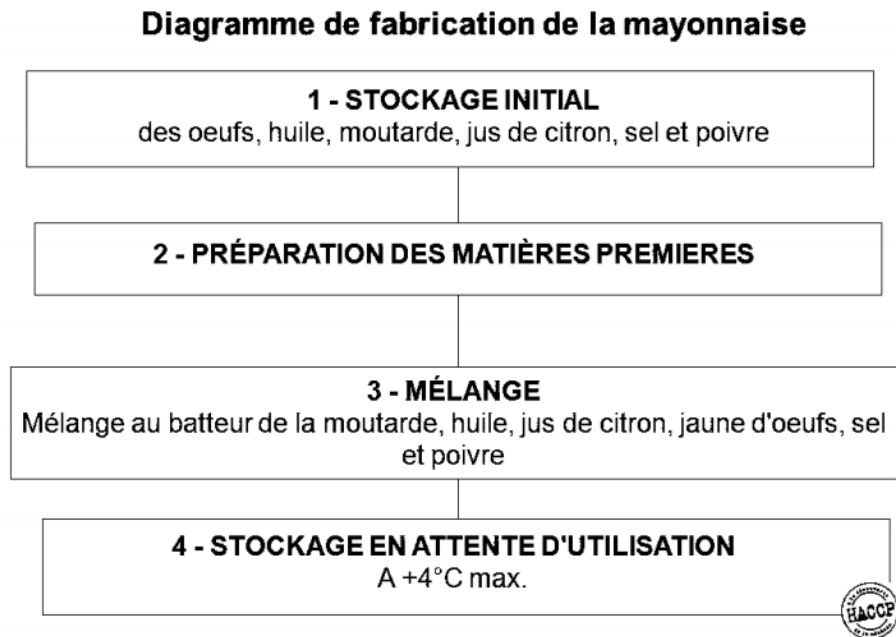
##### **a- Préparation de la phase grasse**

La phase grasse est constituée de l'huile dans les proportions définies selon la recette ainsi que des auxiliaires de fabrication qui y sont solubles tels que : l'émulsifiant, les vitamines, les arômes. La préparation proprement dite de la phase grasse consiste à dissoudre les additifs dans l'huile. Le liquide limpide ainsi obtenu constitue la phase grasse complète.

##### **b- Préparation de la phase aqueuse**

La phase aqueuse est constituée de l'eau et du vinaigre ainsi que des additifs qui y sont solubles tels que : le sel, le sucre, les arômes, les conservateurs, etc.

Le procédé discontinu ou fabrication par charge est le procédé de choix pour la production de la mayonnaise à l'échelle semi-artisanale. Selon ce procédé, le processus de fabrication dans une installation de type FRYMA se déroule de la manière suivante : - introduire la phase aqueuse et le jaune d'œuf dans la cuve sous vide, - mettre en marche le broyeur colloïdal avec retour dans la cuve, - introduire, en petites quantités au départ, la phase huileuse, -augmenter progressivement la quantité de phase huileuse à ajouter au fur à mesure que l'émulsion commence à devenir visqueuse.



**Figure 11.** Diagramme de fabrication de la mayonnaise

#### 4.1.4. Paramètres influençant la réussite d'une mayonnaise

Pour réussir une mayonnaise, des facteurs auxiliaires s'ajoutent aux principaux ingrédients qui la compose, tels que : la température, la vitesse de mixage, le mode de versement de l'huile et les ustensiles utilisés pour la préparation.

- **La température**

Plus la température est basse, plus la miscibilité de l'huile et de l'eau est réduite car l'huile a tendance à se figer. Malgré le mixage rapide, on sera dans l'impossibilité de former des gouttelettes et donc de réussir la mayonnaise. Il faut que les ingrédients soient tous à température ambiante (Allegret et *al.*, 2008).

- **La vitesse de mixage**

Afin de former les micelles huile-lécithine, il faut diviser l'huile en fine gouttelette ; ce qui est favorisé par un mixage rapide. Donc un mixage rapide a pour conséquence d'augmenter la compacité et la dureté de la mayonnaise (Hervé, 2015).

- **Le mode de versement de l'huile**

L'huile doit être introduite ou ajoutée petit à petit (par petite gouttelettes) est pas d'un seul coup (Allegret et *al.*, 2008).

- **Les ustensiles**

Les ustensiles utilisés doivent être bien adaptés pour une meilleure division des gouttelettes et donc une meilleure consistance en un minimum de temps. Les ustensiles à lamelles permettent d'obtenir une meilleure viscosité (Hervé, 2015).

#### **4.1.5. Conservation et contrôle qualité de la mayonnaise**

Si les mayonnaises industrielles ont toujours pour objectif prioritaire d'être goûteuses et réussies, d'autres contraintes s'ajoutent. Ainsi, la nécessité de mettre sur le marché un produit parfaitement sain et de qualité constante, d'une durée optimale de conservation de un an à température ambiante, implique le respect des quelques impératifs suivantes :

- **La conservation microbiologique**

En l'absence de conservateurs chimiques, c'est la recette et la recette seule, qui, par sa composition, s'opposera à la croissance des microorganismes. Le pH d'une valeur toujours inférieure à 4.0, élimine d'emblée le risque de croissance des germes pathogènes. L'acidité acétique (provenant du vinaigre), complétée par l'effet des autres éléments présents (sel, sucre, moutarde, jus de citron, éventuellement amidon), s'oppose efficacement à la croissance des levures, lactobacilles et moisissures.

L'utilisation de jaunes d'œufs, reçus salés et pasteurisés, de même que le traitement thermique sur place de la phase aqueuse, permettent de garantir la propreté microbiologique au départ. L'huile n'a pas de sensibilité directe vis-à-vis des microorganismes cités. Cependant, en tant que simple vecteur, elle pourrait éventuellement être à l'origine d'une contamination de la phase aqueuse. Elle doit donc aussi répondre à des normes microbiologiques définies (Fedalim, 2019).

- **La conservation chimique**

L'ennemi numéro un de la mayonnaise est l'oxygène de l'air, responsable des réactions dites d'oxydation. Aussi, la fabrication sous vide d'air, de même que la protection plus ou moins efficace apportée par l'emballage, contribuent à limiter la rapidité de ces réactions d'oxydation, génératrices de saveurs parasites désagréables. Cependant, d'autres réactions chimiques entre

ingrédients, y compris l'huile, peuvent également être à l'origine de mauvais goûts après plusieurs mois de stockage. Il est à noter que toutes ces réactions sont fortement accélérées si la température ambiante est plus élevée et d'autant plus encore si l'emballage est peu protecteur. C'est en se basant sur ce critère de conservation chimique, donc d'évolution du goût, que l'on déterminera la Date Limite d'Utilisation Optimale (D.L.U.O.), imprimée sur les emballages (Fedalim, 2019).

Un contrôle basé sur les bonnes pratiques de fabrication (BPF) et les bonnes pratiques d'hygiène (BPH), ainsi que sur la qualité des matières premières, particulièrement les œufs, est décisif pour la qualité du produit fini. Il ne faut, en outre pas oublier le contrôle de l'air ainsi que des emballages utilisés.

A cet effet les différents examens qui doivent être effectués dans le produit fini sont les suivants :

- Examen bactériologique : nombre de germes totaux inférieur à 3 000 / g et absence de germes pathogènes ;
- teneur en acide acétique et en sel ;
- viscosité ;
- stabilité de l'émulsion ;
- qualité de l'émulsion.

Pour le conditionnement, la propreté des récipients d'emballage est absolument indispensable. Les bocaux en verre offrent l'avantage de la facilité d'entretien et de la neutralité vis à vis du milieu acide (Kone, 2001).

# *Introduction*

# *Partie bibliographique*

*Chapitre 1*  
*La spiruline*



# *Chapitre 2*

## *Les émulsions*



# *Partie expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

## *Résultats et discussion*

# *Conclusion*

# *Références bibliographiques*

# *Annexes*

## 1. Matériel et méthodes

### 1.1. Objectif de l'étude

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des substances bioactives naturelles contenues dans une microalgue, appelée spiruline.

La valeur nutritionnelle de la spiruline, expliquée en grande partie par la présence conjointe de fibres, de minéraux et de protéines, ainsi que les propriétés antioxydantes et biologiques variées qu'elles possèdent, ne cessent d'intéresser de plus en plus les chercheurs et les consommateurs.

C'est dans ce contexte que nous nous sommes intéressés dans ce travail à l'intérêt potentiel que présente cette microalgue, après avoir documenté plusieurs ouvrages portant sur la singularité biologique de la spiruline et les propriétés des molécules qui la caractérisent.

Cette étude été essentiellement réalisée au laboratoire de biochimie et de microbiologie de l'Université de Mostaganem.

L'objectif de l'étude consisté à :

- Evaluer *in vitro* l'activité antioxydante de la spiruline ;
- Doser les polyphénols totaux contenus dans cette matière ;
- Déterminer l'activité antibactérienne de la spiruline vis-à-vis quelques souches pathogènes ;
- Etudier l'effet de l'ajout de la spiruline sur les caractéristiques organoleptiques et physicochimiques de la Mayonnaise.

### 1.2. Origine de la matière végétale

Les échantillons de spiruline « *Spirulina platensis* » en poudre conditionnées en sachets de 100g ont été achetés auprès d'une pharmacie en France.



**Figure 12.** Poudre de spiruline

### 1.3. Réactifs et milieux de cultures utilisés

Lors de ce travail, différents réactifs chimiques et milieux de cultures ont été utilisés :

#### 1.3.1. Réactifs chimiques

- Solution de DPPH ;
- Solution de méthanol ;
- L'acide ascorbique ;
- L'acide gallique ;
- Réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ;
- Disques d'oxydases ;
- Disques d'antibiotiques (Vancomycine, Rifampicine, Acide Fusidique, Gentamicine, Acide Nalidixique et Fosfomycine) ;
- L'hydroxyde de sodium (NaOH) ;
- Carbonates de sodium ;
- Phénolphtaléine ;
- Violet de gentiane, Lugol, Fushine et éthanol pour la coloration de Gram.

#### 1.3.2. Milieux de cultures

- Le milieu Bouillon nutritif (BN) a été utilisé pour la revivification des souches conservées ;
- les milieux Chapman et Mac-Conckey, ont été utilisés pour la purification et la caractérisation macroscopique des souches isolées ;
- le milieu MH (Mueller Hinton), pour le test de sensibilité et de résistance (Voir la composition de chaque milieu en annexe).

### 1.4. Analyses physico-chimiques

#### 1.4.1. Détermination de l'activité antioxydante de la spiruline

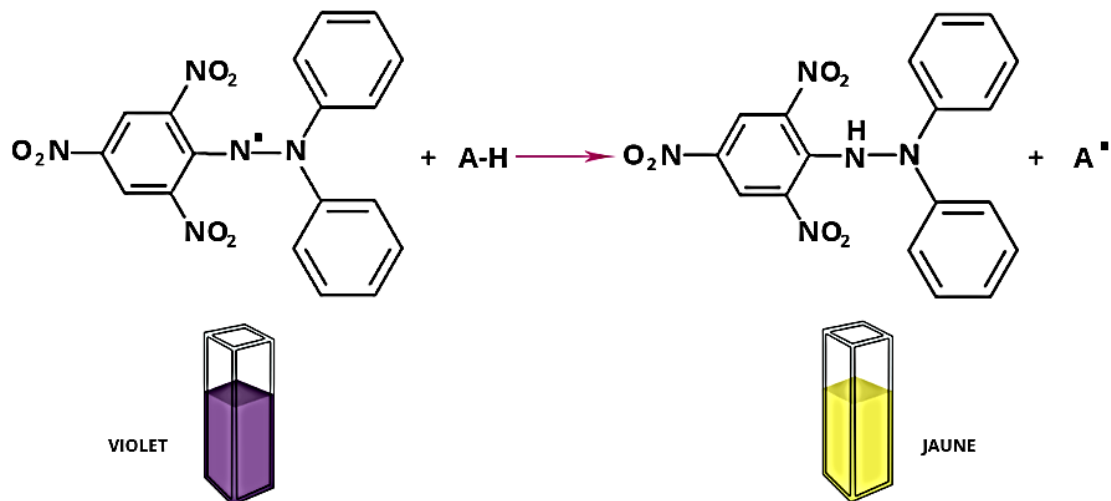
##### 1.4.1.1. Test du DPPH

Le procédé de piégeage des radicaux libres du 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyle (ou DPPH) constitue la première approche pour évaluer le potentiel antioxydant d'un composé, d'un

extrait ou d'autres sources biologiques dans un système modèle (solvant organique, température ambiante).

C'est un test qui mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH par transfert d'un hydrogène.

Le DPPH, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle selon la réaction suivante (Figure 12) (Popovici, 2009) :



**Figure 13.** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

La réduction du DPPH est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  DPPH). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant.

#### ✓ Mode opératoire

##### - Préparation de l'extrait aqueux

Une quantité de 40mg de poudre de spiruline sont mises à macérer dans 20ml de méthanol pendant 10 minutes à température ambiante.

L'extrait aqueux est récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un papier filtre, permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur verdâtre.

##### - Mesure de l'activité

Selon le protocole décrit par Mansouri *et al.*, (2005), 100  $\mu\text{l}$  des solutions d'extraits de spiruline à différentes concentrations (50 $\mu\text{g/ml}$ , 100 $\mu\text{g/ml}$ ..... 250 $\mu\text{g/ml}$ ) ont été ajoutés à 1300

µl de DPPH (préparée dans du méthanol). Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 100 µl de méthanol (sans extrait) avec 1300µl de la solution méthanolique de DPPH.

La lecture de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 515nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant de synthèse qui est l'acide ascorbique (antioxydant standard) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration. Chaque test a été réalisé en trois répétitions.

S'agissant de l'activité antiradicalaire, celle-ci est révélée par la diminution de l'intensité de la coloration du mélange qui est exprimée en pourcentage d'inhibition et calculée selon la formule :

$$PI = (D.O \text{ témoin} - D.O \text{ extrait} / D.O \text{ témoin}) \times 100$$

Où :

- PI : Pourcentage d'inhibition.
- D.O témoin : Absorbance du témoin négatif.
- D.O extrait : Absorbance de l'extrait

Pour chaque extrait, les valeurs EC50, correspondant à la concentration de l'extrait responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire (Talbi et *al.*, 2014).

#### 1.4.2. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est une solution de couleur jaune constituée d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Ce réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène (Boutalbi, 2014).

La coloration bleue produite, dont l'absorption maximale est au voisinage de 750 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits de la spiruline.

La quantification des polyphénols est effectuée à l'aide d'une courbe d'étalonnage linéaire, réalisée dans les mêmes conditions que l'échantillon, en utilisant l'acide gallique comme standard.

#### ✓ **Mode opératoire**

200µl de l'extrait aqueux de spiruline (préparé dans le méthanol avec des dilutions convenables) sont ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-ciocalteu. Après 4 minutes, un volume de 0,8 ml (800µl) d'une solution de carbonates de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (75mg/ml) est additionné au milieu réactionnel.

Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance des échantillons (de couleur bleue) est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV Visible.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (polyphénol témoin ou standard utilisée dans cette méthode) et elle est exprimée en milligramme (ou en µg) d'équivalent d'acide gallique par gramme (ou milligramme) du poids sec de spiruline (mg EAG/g d'extrait ou µg EAG/mg d'extrait) (Talbi et *al.*, 2014).

Tous les essais sont reproduits en triplicata.

## **1.5. Analyses microbiologiques**

### **1.5.1. Détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline**

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de spiruline contre les deux souches bactériennes choisies pour le test est évaluée par la technique de diffusion sur milieu solide (ou la méthode des disques).

Les bactéries de référence utilisées : *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 et *Escherichia coli* ATCC 25922, proviennent du laboratoire de recherche pédagogique de l'Université de Tlemcen.

Des tests confirmatifs de l'identité des souches ont été réalisés (culture sur géloses, coloration de Gram, test de catalase et d'oxydase) et un renouvellement de la conservation a été effectué après caractérisation.

### ➤ Revivification des souches

Les souches identifiées auparavant et conservées sur milieux spécifiques (géloses inclinés) ont été revivifiées sur bouillon nutritif.

La revivification consiste à prendre quelques colonies des tubes contenant les souches conservées et les mettre dans un tube à essai stérile contenant 5ml de Bouillon nutritif préalablement préparé. Après incubation à 37°C (température optimale de croissance de ces bactéries) pendant 24 heures, la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

### ➤ Purification des souches

L'étape de purification consiste à réaliser un isolement par stries à partir du bouillon d'enrichissement sur géloses spécifiques préalablement coulées sur des boîtes de pétri (milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* et milieu Mc-Conkey pour *Escherichia coli*). L'incubation est réalisée respectivement à 37°C et à 44°C pour les *Staph* et *E. coli* pendant 24 heures.

L'obtention de colonies de même taille et de même aspect après étuvage, renseigne sur la pureté des souches. Cette pureté est confirmée par observation microscopique après coloration de Gram.

### ➤ Conservation des souches

La conservation des souches purifiées peut être de courte ou de longue durée.

Une conservation de courte durée se fait par ensemencement d'une colonie sur une gélose solide et inclinée spécifique à la souche. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, ces derniers seront conservés à 4°C pendant quelques semaines.

Une conservation de longue durée permet quant à elle une préservation des souches allant de quelques mois à quelques années. Dans ce type de conservation deux cryoprotecteurs additionnés au milieu de culture peuvent être utilisés. Ce sont soit le glycérol ou le DMSO (diméthylsulfoxyde). La conservation est faite à -20°C.

➤ **Tests d'orientation pour la caractérisation des souches isolées**

- **Aspect macroscopique des cultures**

Cette étude consiste à observer à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire les colonies obtenues sur milieux gélosés (Chapman et Mc-Conckey). C'est un examen direct qui permet de renseigner sur la forme, la taille, la consistance, l'odeur, le contour et la couleur des colonies.

- **Etude des caractères morphologiques**

Après l'examen macroscopique des colonies sur milieux gélosés, un examen microscopique d'un frotti coloré vient compléter l'étude. Cela permet d'avoir une idée sur la morphologie des cellules, leur mode de regroupement ou d'association et leurs caractères structuraux.

La coloration différentielle la mieux connue est celle de Gram (Voir annexe), qui permet de différencier les bactéries Gram + et Gram -.

- **Etude de quelques caractères biochimiques et physiologiques**

▪ **Test de catalase**

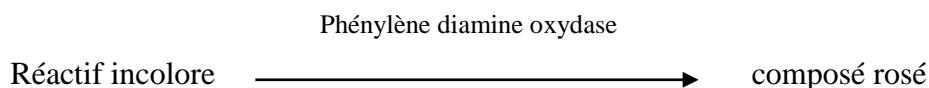
Une catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène selon la réaction suivante :  $H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$

La technique consiste à déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame sèche et propre et y déposer, à l'aide d'une anse de platine ou d'une pipette Pasteur, une colonie isolée d'une culture de moins de 24 heures (ou plusieurs si petites colonies) de la souche à tester. La lecture du résultat est immédiate : s'il y a effervescence, signe d'un dégagement gazeux d'oxygène, la souche testée est dite catalase +, sinon elle est considérée comme étant catalase -.

▪ **Recherche de l'oxydase**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Une enzyme capable d'oxyder un réactif : le N diméthyl paraphénylène diamine.

Ce réactif est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose-rouge, noircissant à l'air.



### 1.5.1.1. Détermination de l'activité antibactérienne

Après avoir confirmé par ces quelques tests l'identité des souches caractérisés au préalable, nous nous sommes projetés par la suite à étudier l'effet de la spiruline en tant qu'agent antimicrobien contre les deux souches sélectionnées.

#### ✓ Préparation de l'extrait de Spiruline

5 g de poudre de *Spirulina platensis* ont été dissoute dans 100 ml d'eau distillée dans une fiole conique et agités régulièrement pendant six heures, puis maintenus au repos pendant 18 heures. Le macérât ainsi obtenu a été filtré avec du papier filtre Wattman N ° 1 et le filtrat a été recueilli dans un ballon propre. Environ 25 ml du filtrat ont été prélevés dans un bol en porcelaine propre et laissés sécher dans un incubateur à 40 °C.

La valeur d'extraction a été calculée en pesant le bol en porcelaine avec l'extrait sec. L'extrait sec ainsi obtenu est stocké par la suite pour des études ultérieures (Chakraborty et al., 2015).

#### ✓ Préparation de l'inoculum bactérien

Les microorganismes choisis (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) pour l'étude de l'activité antibactérienne de la spiruline ont été cultivés dans un bouillon stérile de nutriments (Bouillon nutritif) et incubés pendant 4 à 8 heures dans une étuve à 37°C afin d'obtenir des résultats de croissance bactérienne en phase exponentielle.

Après incubation, les milieux de culture ont été centrifugés pour obtenir un culot puis reconstitués avec une solution saline stérile. La turbidité de la culture a été ajustée de manière similaire à la norme (en ajoutant 0,5 ml de BaCl<sub>2</sub> à 1% à 99,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,36 N) (Chakraborty et al., 2015).

#### • Détermination de l'activité antibactérienne

Un prélèvement à partir de l'inoculum préparé sert à ensemercer des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques stériles de papier Wattman de 8 mm de diamètre, chargés de 15 µl de l'extrait aqueux (3mg par disque) sont déposés sur la surface de la gélose.

Des disques imprégnés d'eau distillée stérile et des disques d'antibiotiques chargés de 5 unités de Rifampicine et de 200 µg de Fosfomycine sont aussi utilisés en tant que témoins

négatifs et positifs respectivement. La Rifampicine est le témoin positif pour *Staphylococcus aureus* par contre la Fosfomycine est le témoin positif pour *Escherichia coli*.

Après incubation des boîtes à 37°C pendant 24 heures, les résultats obtenus seront exprimés en diamètre de zones d'inhibition produites autour des disques (Chakraborty et al., 2015). Cette analyse est réalisée en triplicata.

## 1.6. Préparation de la Mayonnaise

### 1.6.1. Ingrédients alimentaires

Nos échantillons expérimentaux de Mayonnaise sont constitués essentiellement d'huile de consommation d'origine végétale, de vinaigre et de jaune d'œuf frais non pasteurisé comme ingrédients de base. Les produits auxiliaires ajoutés à nos préparations (dont la mission est celui d'influencer les caractéristiques physiques et organoleptiques de notre mayonnaise) sont le sel, le poivre et la moutarde.

Dans une Mayonnaise, plusieurs additifs peuvent être additionnés, tels que l'acide ascorbique en tant qu'antioxydant, des lécithines comme émulsifiants, de la pectine ou de l'agar-agar qui jouent un rôle d'épaississants, ou des additifs exhausteurs de goût tel que l'acide glutamique et ses sels (Kone, 2001).

Les échantillons de Mayonnaises préparés ont été additionnés avec la poudre de spiruline à des concentrations de 1% et 2%. Le 3<sup>ème</sup> lot sans addition de spiruline (0%), constitue le témoin.

- **Mode opératoire**

Dans le but d'observer l'effet de l'ajout de la poudre de spiruline sur la stabilité et la qualité organoleptique et microbiologique de la Mayonnaise, celle-ci a été fabriquée à l'échelle du laboratoire en utilisant le jaune d'œufs de poules et des ingrédients de bonnes qualités.

Avant la préparation de la Mayonnaise, tous les ingrédients doivent être à température ambiante.

Les échantillons ont été préparés en empruntant les étapes suivantes :

Battre à vitesse moyenne (mouvement circulaire dans un seul sens à l'aide d'un fouet ou d'un mixeur) le jaune d'œuf avec la moutarde, le sel, le poivre et le vinaigre. Quand le mélange est assez lisse, s'ensuit alors un ajout progressif de l'huile et au final l'incorporation de la poudre de spiruline à raison de 1% et 2%.

Les échantillons de Mayonnaise élaborés ont été conditionnés dans des emballages en en verres stériles et conservés au réfrigérateur à  $5 \pm 1^\circ$  pendant 24 heures au minimum avant d'être utilisés pour l'analyse sensorielle.

L'évaluation organoleptique a été réalisée par un panel de 15 dégustateurs naïfs (Etudiants de l'Université de Mostaganem) selon un questionnaire préalablement établi.

## 1.7. Analyses physicochimiques de la Mayonnaise

### 1.7.1. Mesure du pH

La mesure du pH est effectuée par un pH-mètre électronique relié à une électrode en verre (Figure 14). L'électrode est introduite dans la Mayonnaise à analyser et la lecture se fait directement sur l'enregistreur électronique quand l'affichage est stabilisé.



Figure 14. pH mètre

### 1.7.2. Acidité titrable

Le titrage constitue la méthode idéale pour déterminer l'acidité et la teneur en acide de toutes sortes d'échantillons. L'analyse se fait avec une solution de NaOH (0.1 N) en présence de phénolphtaléine comme indicateur de couleur.

- **Mode opératoire**

2. Dans une fiole conique, mettre 10g de mayonnaise, suivi par un ajout de 50ml d'eau distillée. Le tout est mélangé jusqu'à obtention d'un liquide ou d'une solution homogène ;
3. Chauffer le contenu au bain marie pendant 30 minutes, après refroidissement, on verse le mélange dans une fiole jaugée de 100 ml en complétant jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée.

4. Après filtration, on prélève 10 ml du filtrat dans 10 ml d'eau distillée et on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine
5. Titrer avec du NaOH (0.1N) jusqu'au virage de la couleur (couleur rose persistante pendant 30 secondes).

Au virage, on note la quantité de NaOH versée et on lui fait correspondre le nombre de degrés Dornic et le pH correspondant.

L'acidité titrable est calculée d'après la formule suivante :

$$A^{\circ} = \% (100 \times V_1 \times 100) / (V_0 \times M \times 10) \times 0.06 = 175 \times V_1 / V_0 \times M$$

Où :

**M** : Masse en gramme prélevée.

**V<sub>0</sub>** : Volume en millilitre de la prise d'essai.

**V<sub>1</sub>** : Volume en millilitre de solution NaOH à 0.1N.

**0.06** : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide acétique (pour 100 g de Mayonnaise).

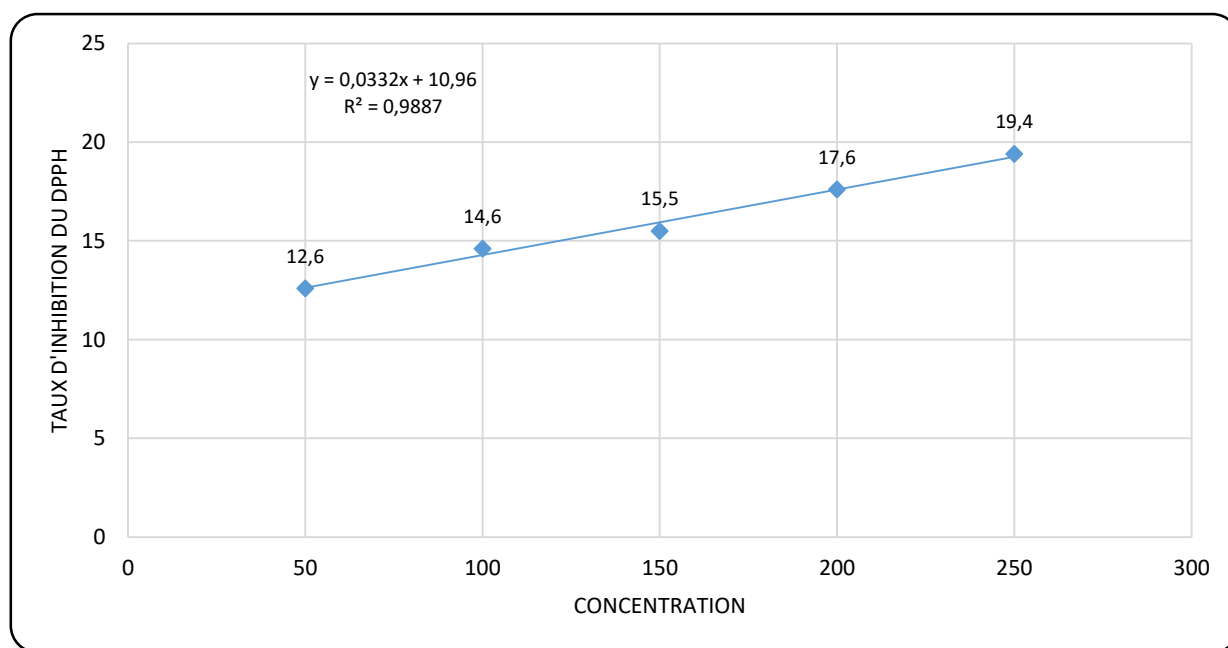
## 1. Résultats & discussion

### 1.1. Analyses physico-chimiques de la spiruline

#### 1.1.1. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique aqueux de *Spirulina platensis* et de l'antioxydant standard (acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH°) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 515nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires.

Les résultats de l'activité antiradicalaire de l'extrait méthanolique de spiruline présentés dans la figure 15, montre une proportionnalité entre le pourcentage d'inhibition et l'augmentation de la concentration.



**Figure 15.** Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *Spirulina platensis*.

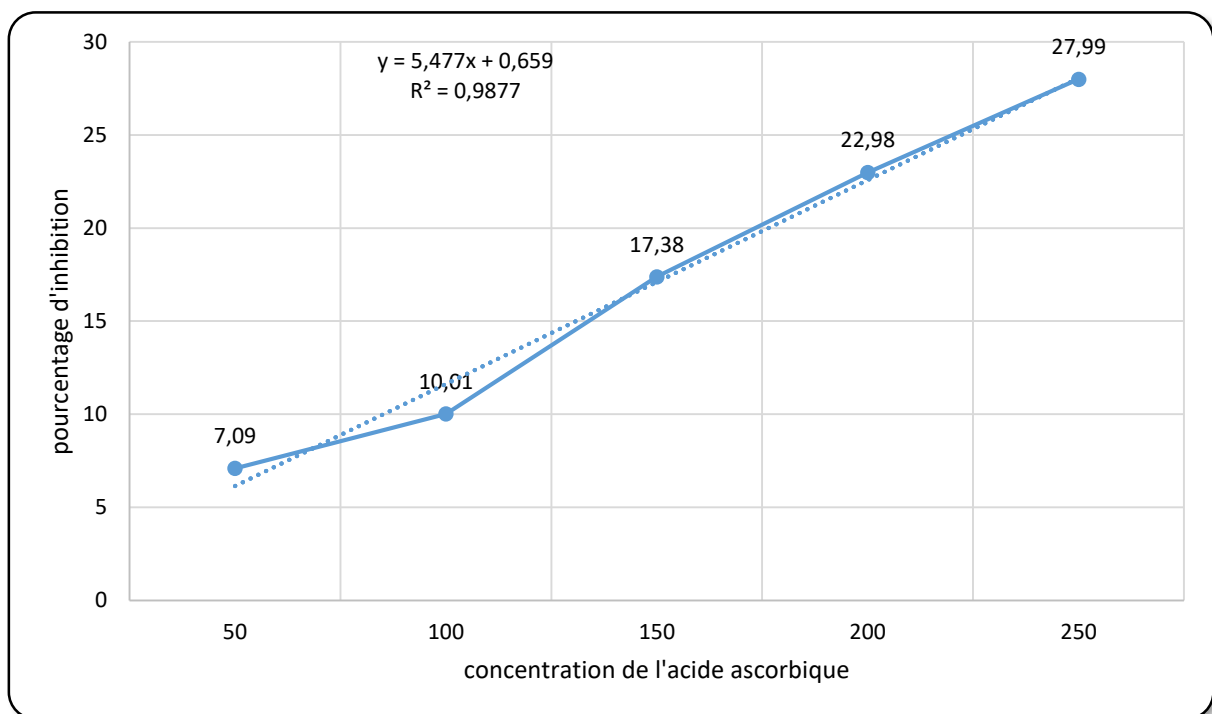
#### - Evaluation de l'IC 50

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 de l'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny *et al*, 2001).

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

La valeur de l'IC 50 obtenu (0,160 mg/ml) montre que la microalgue a une capacité antioxydante légèrement supérieure par rapport à celle de l'acide ascorbique (0,156 mg/ml) (Figure 16).

Son activité antioxydante est due principalement à sa composition en polyphénols ainsi qu'aux pigments, qui semblent être liées à cette activité (Piero et *al.*, 1998).



**Figure 16.** Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

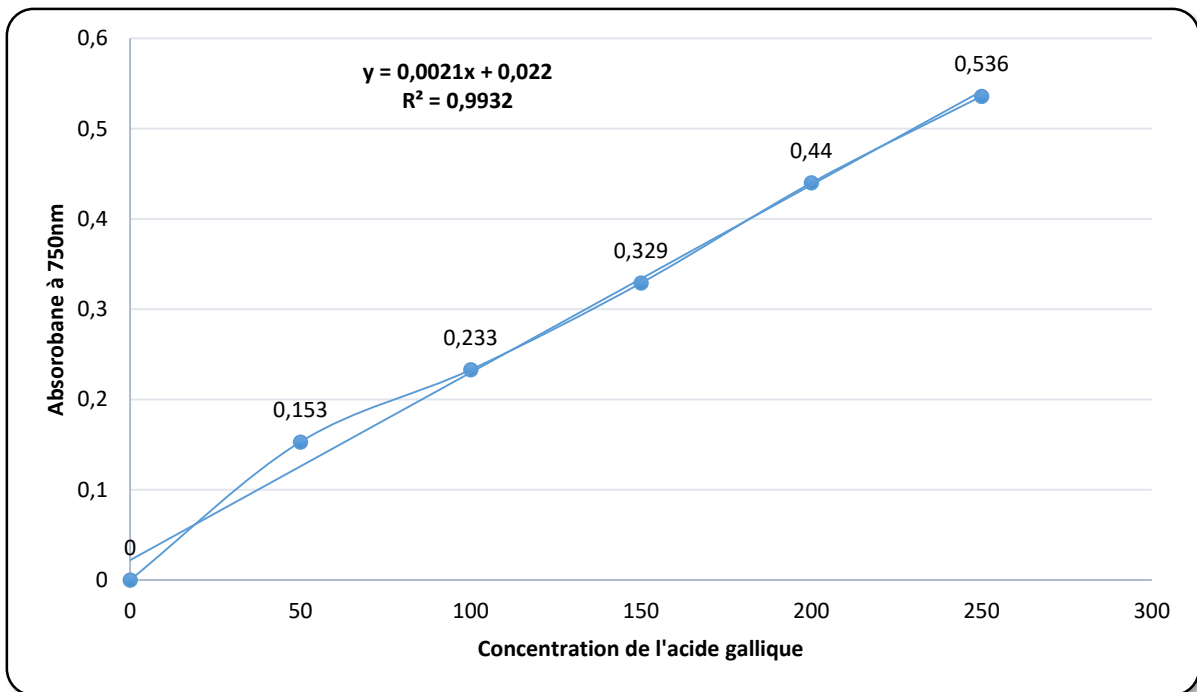
1.1.2. Teneur en polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait de spiruline est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu.

Les résultats de la courbe d'étalonnage établie à partir des valeurs d'absorbance de l'acide gallique (Tableau 2), sont représentés dans la figure 17.

**Tableau 2.** Résultats d'absorbance des différentes concentrations d'acide gallique exprimées en µg/ml.

Tubes	1	2	3	4	5
Densité optique moyenne des 3 essais à 750nm	0,153	0,233	0,329	0,444	0,536



**Figure 17.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (exprimée en µg/ml).

De ces résultats, la valeur moyenne des phénols totaux trouvés dans l'extrait de spiruline (qui est de l'ordre de  $(64,28 \pm 0,47 \mu\text{g}/\text{mg})$ , soit une teneur de  $(1,6 \text{ mg EAG}/\text{g MS})$ ) calculée à partir de la droite de régression de l'acide gallique est comparable à celles trouvés par Shalaby et al., (2013)  $(1,7 \text{ mg EAG}/\text{g MS})$  et Colla et al., (2006)  $(1,25 \text{ mg EAG}/\text{g MS})$ .

Cependant des différences de teneur en polyphénols totaux de la spiruline peuvent être observées, et ce en fonction de plusieurs facteurs, on cite comme exemples :

- La nature du polyphénol témoin (ou du standard) utilisé dans le dosage car l'intensité de la réaction varie en fonction du nombre de groupements hydroxyles (-OH) portés par les noyaux benzéniques des molécules ;
- La nature du solvant utilisé dans l'extraction (eau, méthanol ou éthanol) ;
- Et la température comme paramètre non négligeable dans la production de biomasse. Une température de 35°C a un effet négatif sur la production de biomasse, mais un effet positif sur la production des protéines, lipides et composés phénoliques synthétisés par les cellules.

## 1.2. Analyses microbiologiques

### 1.2.1. Revivification et purification des souches étudiées

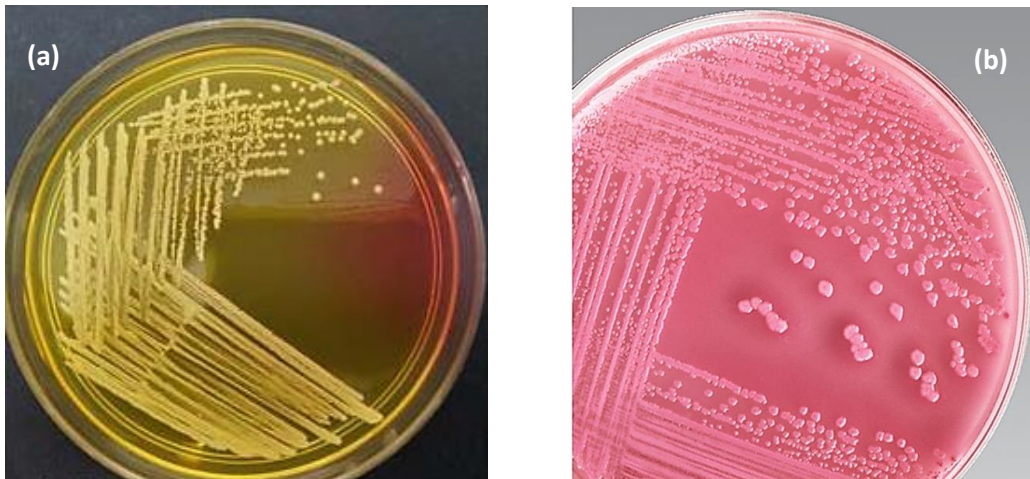
#### • Caractères cultureux

L'observation à l'œil nu des cultures sur milieux gélosés (Chapman pour *Staphylococcus aureus* et Mc-Conckey pour *Escherichia coli*), a été appréciée par des colonies visibles et de tailles similaires pour chaque genre (environ 1 à 2mm de diamètre pour les *Staphylococcus* et de 2 à 3mm de diamètre pour *E. coli*).

Les colonies de *Staphylococcus aureus* étaient de forme ronde, lisse et un peu bombée, avec une couleur blanchâtre à crème sur milieu GN. Cependant, Elles prennent une couleur dorée sur milieu Chapman dû à la fermentation du mannitol.

Les caractères cultureux d'*Escherichia coli* sur milieu Mc Conckey ont révélés aussi des colonies incolores, rondes, lisses et crémeuses.

La figure 18 illustre l'aspect macroscopique des deux souches sur leurs milieux spécifiques.



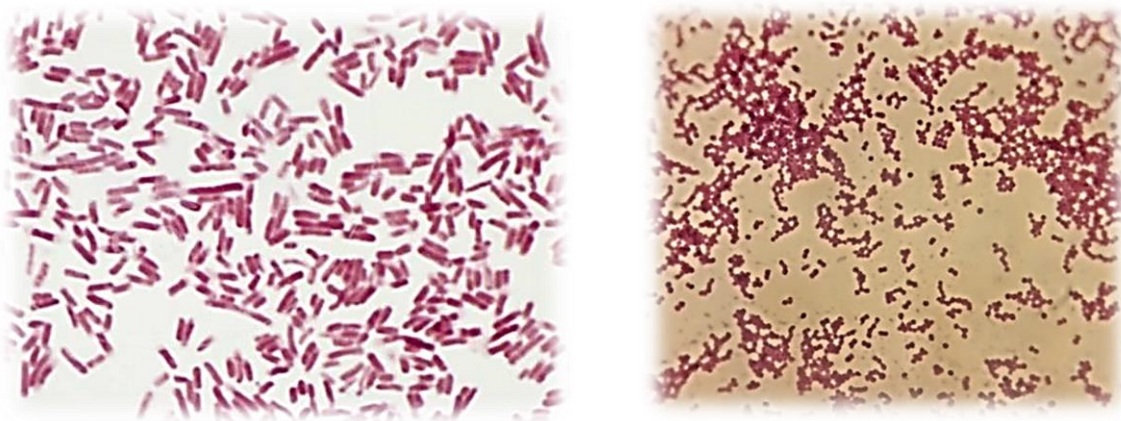
**Figure 18.** Aspect macroscopique des deux souches, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sur milieu Chapman (a) et milieu Mc-Conckey (b).

- **Caractères morphologiques**

La caractérisation microscopique du staphylocoque doré après coloration de Gram a dévoilé des coques Gram positifs, en amas réguliers (sous forme de grappes de raisin), associées en paires (diplocoques), ou en courtes chaînes. Une description tout à fait conforme à celle donnée par Carr et *al.* (2002).

Le résultat de cette même coloration effectuée sur la souche *E. coli*, a aussi confirmé ses caractéristiques morphologiques sous microscope. L'examen de la bactérie a révélé des cellules sous forme bâtonnets (bacilles) à Gram négatifs et parfois sous forme de longs filaments, conséquence de la vieillesse de la culture.

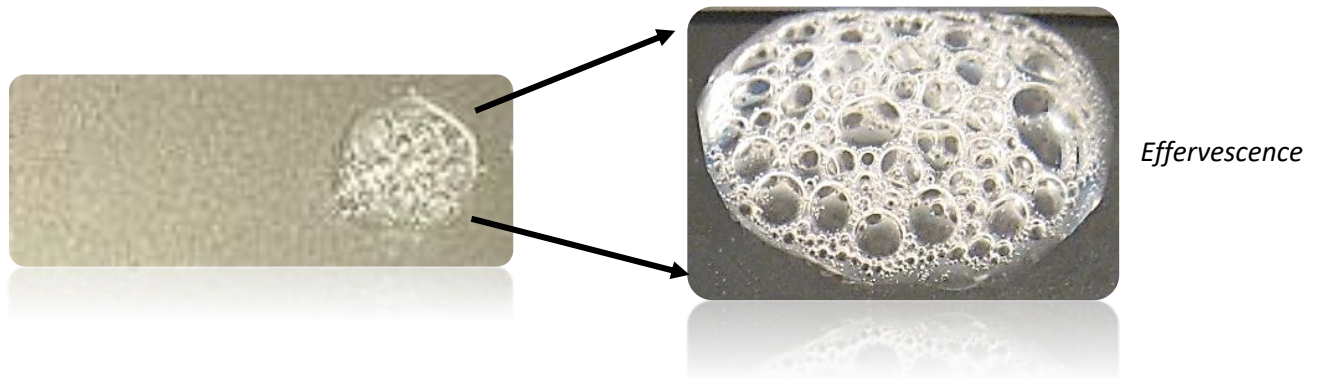
La figure 19 démontre l'aspect microscopique des deux souches après coloration de Gram.



**Figure 19.** Aspect microscopique des deux souches, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* après coloration de Gram.

• **Test de catalase**

Le test de catalase étant aussi un examen clé de confirmation de la pureté des souches, à corroborer avec les résultats trouvée par Kihal (1996), Carr *et al.* (2002) et Badis *et al.* (2005). Les deux souches étudiées se sont avérer être catalase positive (Figure 20).



**Figure 20.** Résultat du test de catalase

• **Test de l'oxydase**

Le test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries étudiées n'a pas révélé un virage du réactif utilisé de l'incolore au violet, ce qui signifie que le résultat de ce test est négatif pour les deux souches.

L'absence de l'oxydase révèle l'incapacité des bactéries testées à oxyder la forme réduite incolore des dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinoniques rose-violacées.

### 1.2.2. Détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline

Pour tester la sensibilité de nos souches bactériennes (*E. coli* et *staphylococcus aureus*) vis-à-vis plusieurs antibiotiques supposés ou connus, un test d'antibiogramme a été effectué.

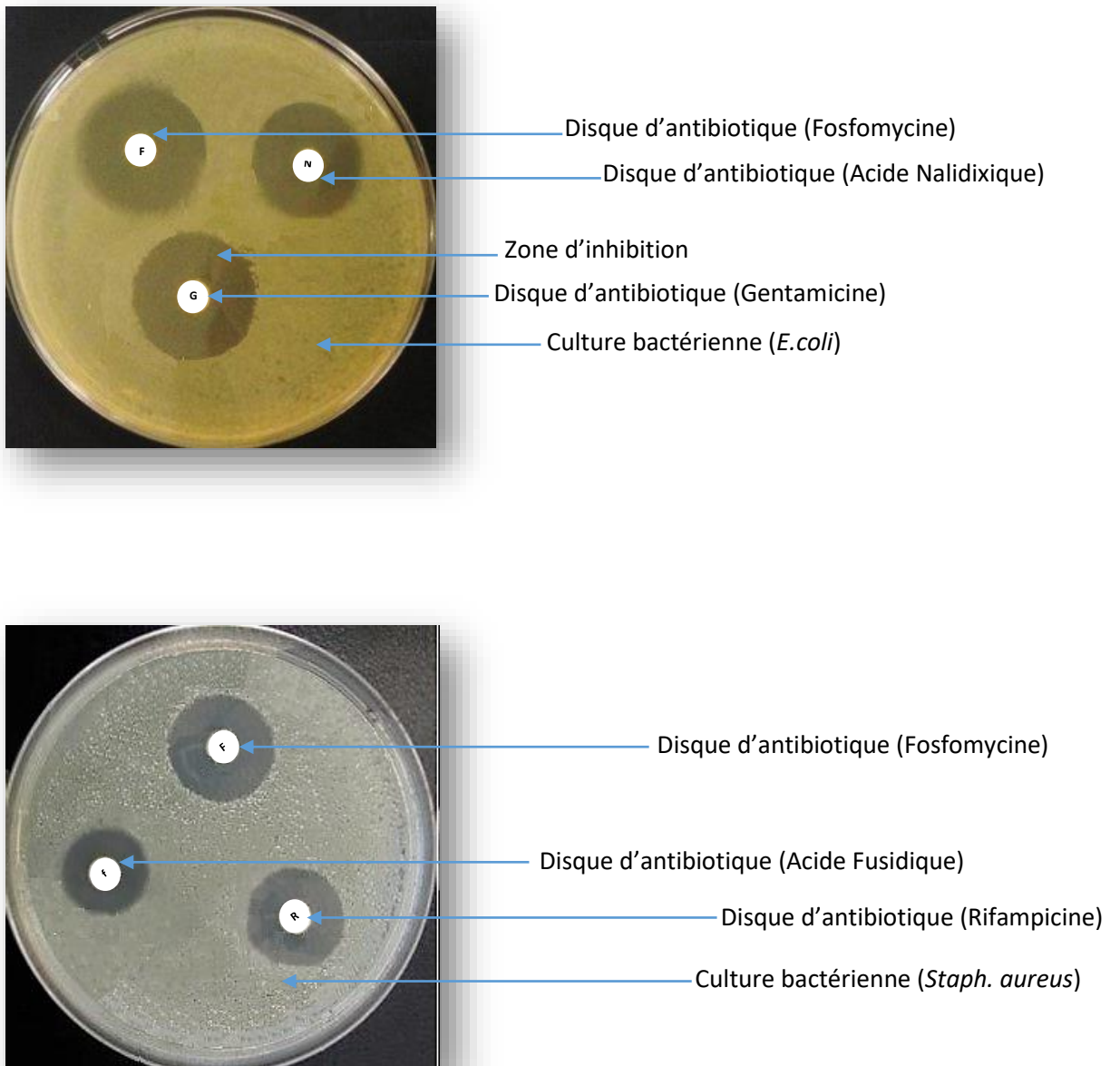
L'intérêt de cet examen est de déterminer au mieux le spectre d'activité antibactérienne des principales familles d'antibiotiques choisies contre ces deux germes et favoriser par la suite l'antibiotique qui a montré un degré d'activité élevé pour l'utiliser en tant que témoin positif dans le test d'activité antibactérienne de la spiruline.

Le choix des antibiotiques (**Gentamycine**, **Fosfomycine**, **Rifampicine**, **Acide Fusidique** et **Acide Nalidixique**) a été fait en se référant aux données et expériences faites au préalable contre *E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats obtenus après analyse de l'antibiogramme, ont tous montré une sensibilité des souches aux antibiotiques testés. Cette sensibilité est traduite par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques comme il est montré dans la figure 21.

La lecture du diamètre des zones d'inhibition ou de lyse pour chaque antibiotique, illustre bien le spectre d'activité élevé de ces derniers contre les souches étudiées.

Le tableau N° 3, donne les valeurs du diamètre de lyse pour chaque antibiotique utilisé dans ce test et les limites acceptables des diamètres d'inhibition comme référence.



**Figure 21.** Résultats du test d'antibiogramme des deux souches (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) pour le choix du témoin positif

**Tableau 3.** Valeurs des diamètres de lyse pour chacune des souches étudiées exprimées en millimètres.

Souches étudiées	Antibiotiques testés	Charge du disque	Diamètre d'inhibition (en mm)	
			Cibles	Limites acceptables
<i>E. coli</i>	Gentamycine	10	22,6	19 – 26
	Fosfomycine	200	28	26 – 34
	Acide nalidixique	30	24	22 – 28
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rifampicine	5	32	30 – 36
	Fosfomycine	200	29	25 – 33
	Acide fusidique	10	29	26 – 32

D'après les résultats obtenus, mentionnés dans le tableau ci-dessus, on constate que les valeurs du diamètre des zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques pour chaque souche étudiée, concordent avec celles donné par le comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (SFM), 2019 puisqu'elle entre dans l'intervalle des limites acceptables.

La forte sensibilité de nos deux souches (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*) à la Fosfomycine et à la Rifampicine respectivement nous ont conduit à les choisir comme témoins positifs dans le test d'activité antibactérienne de la spiruline.

• **Activité antibactérienne de la spiruline**

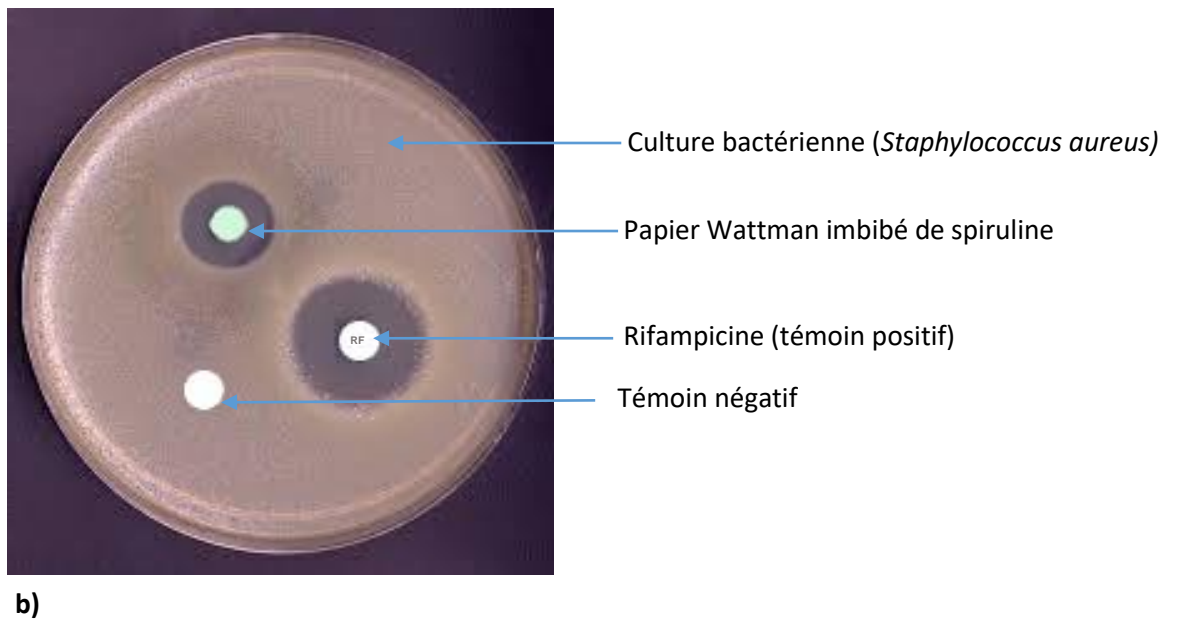
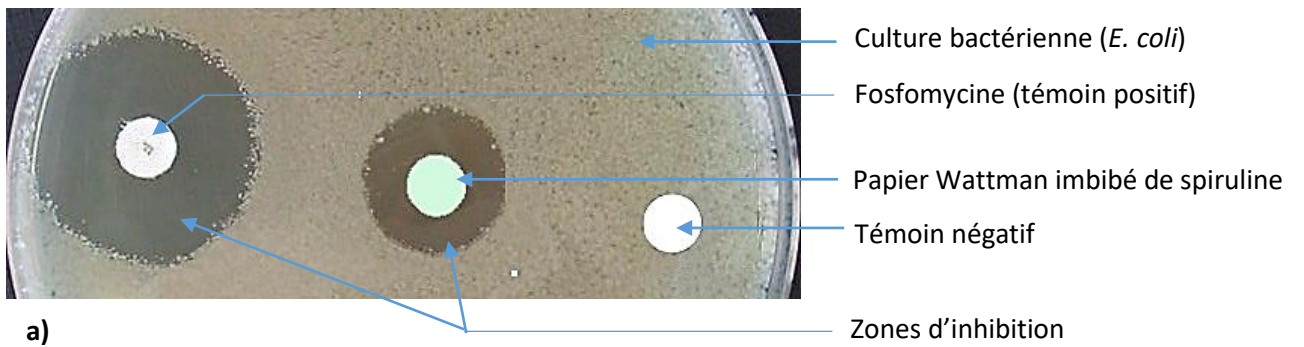
Les résultats (Figure 22) de l'activité antibactérienne, montre que la spiruline exerce une activité inhibitrice vis-à-vis *E. coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de 17 mm et 18mm respectivement (Tableau 4). L'effet inhibiteur de la spiruline était plus important contre la souche *Staphylococcus aureus* par rapport à la souche *E. coli*.

En parallèle, les deux antibiotiques utilisés comme témoins positifs dans ce test, ont confirmé les valeurs du diamètre obtenu dans le test de sensibilité des deux souches étudiées, à savoir 27,3mm de diamètre pour la Fosfomycine et 30,5mm pour la Rifampicine.

Le témoin négatif quant à lui, n'a exercé aucun effet sur la croissance de la bactérie.

**Tableau 4.** Diamètre des zones d'inhibition de la spiruline vis-à-vis *E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

	Souches testées	Concentration	Souches testées	
			<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Diamètre d'inhibition en mm	Spiruline	1%	17	18
	Témoins positifs	Fosfomycine (200)	27,3	
		Rifampicine (5)		30,5
	Témoin négatif	Eau physiologique	6	6



**Figure 22.** Résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline contre :  
a) *Escherichia coli* et b) *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline corroborent avec plusieurs travaux de recherche déjà effectués. On cite parmi eux, les travaux de Chakraborty et *al.*, (2015), qui porte sur une étude comparative de l'activité antimicrobienne des extraits de *Spirulina platensis* contre des bactéries Gram positive et Gram négative. Dans cette étude, les résultats obtenus ont permis d'observer une activité antibactérienne claire des extraits de spiruline à des doses allant de 1,6 à 1,9 mg/ml, à travers les zones d'inhibitions observées contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et bien d'autres bactéries telles que *Staphylococcus epidermidis* et *Klebsiella Pneumonia* comme montré dans le tableau 5.

**Tableau 5.** Valeurs moyennes des diamètres de zones d'inhibition des différents extraits de spiruline contre quelques bactéries tests (Gram positive et Gram négative) (Chakraborty et *al.*,2015).

Bactéries	Gram	Extraits d'eau	Extraits de méthanol	Extraits d'éthanol	Extraits d'acétone
<i>S. aureus</i>	+	19*	16	13	9
<i>S. epidermidis</i>	+	19*	18	15	18
<i>K. pneumonia</i>	+	18*	12	15	16
<i>P. aeruginosa</i>	-	PZ	19*	13	15
<i>E. coli</i>	-	18	06	10	19*

Le diamètre des zones d'inhibition des différents extraits de spiruline sont exprimés en mm

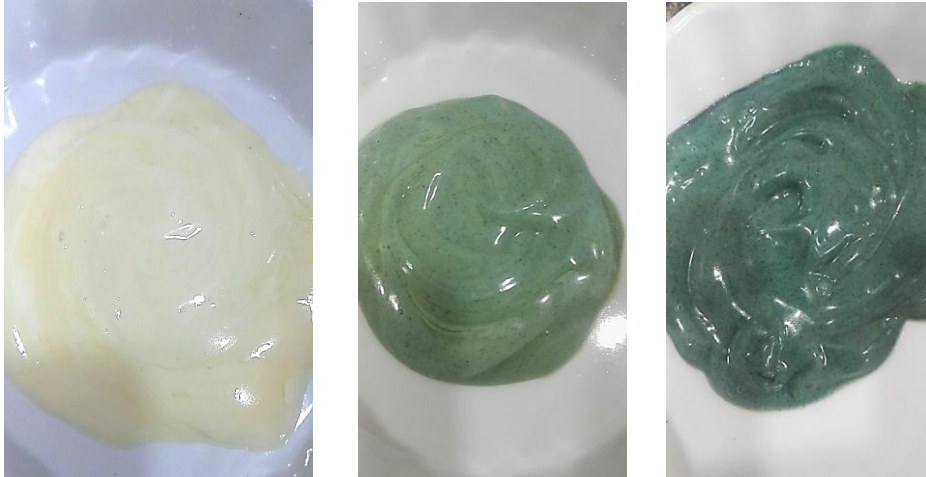
PZ : pas de zone

\* : inhibition maximale

Plus de recherches prouvent la nature multifonctionnelle de la spiruline. Son activité antimicrobienne exprimée dans cette étude suggère son utilisation pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses causées par des germes pathogènes.

### 1.3. Préparation des échantillons expérimentaux de Mayonnaise

Les résultats de préparation de nos 03 échantillons expérimentaux de Mayonnaises sont représentés dans la figure 23.



**Figure 23.** Les échantillons expérimentaux de Mayonnaises préparées.

### 1.4. Analyse sensorielle de la Mayonnaise

L'analyse sensorielle de la sauce Mayonnaise à travers le questionnaire établi, et les informations recueillis après dégustation ont permis de donner les résultats suivants : les résultats et l'analyse statistique sont présentés dans l'annexe 4.

### 1.5. Analyses physicochimiques de la Mayonnaise

#### 1.5.1. pH et acidité titrable

Pour observer et apprécier l'évolution du pH de nos 03 échantillons expérimentaux de Mayonnaise au cours du temps, deux mesures de pH ont été effectuées. Une première mesure faite juste après la préparation de notre sauce, et une deuxième réalisée après conservation de nos échantillons au froid pendant 15 jours.

Les résultats obtenus (Tableau N° 6) ont permis de mettre en évidence l'évolution décroissante du pH de nos échantillons de Mayonnaise au cours du temps (après conservation de 15 jours). Cependant, les résultats de cette variation du pH est plus conséquente dans nos échantillons de Mayonnaise enrichis en spiruline par rapport à l'échantillon témoin.

Nous constatons pour l'échantillon 3, une importante diminution du pH (3.41 à 2.98) par rapport à l'échantillon témoin qui lui, enregistre une baisse de pH un peu plus légère (3.32 à 3.03).

Les résultats obtenus vont de pair avec ceux trouvés par d'autres auteurs qui ont montré une corrélation entre la production de l'acide lactique par quelques souches de bactéries lactiques et les profils du pH de chaque échantillon.

L'importante diminution du pH constaté dans les deux échantillons additionnés de spiruline explique l'influence de cette microalgue ajoutée sur la croissance des bactéries lactiques acidifiantes du milieu ; une constatation confirmée par plusieurs travaux de recherche dont celui de Hamouda et Doumandji, (2015).

Concernant l'acidité titrable, les résultats de son évolution après conservation ont confirmé les valeurs du pH obtenus (elles sont inversement proportionnelle aux pH).

Les échantillons 2 et 3 ont montré une acidité légèrement plus élevée que celle de l'échantillon témoin ce qui confirme l'influence de l'ingrédient additionnée dans l'augmentation de l'acidité dornic.

**Tableau 6.** Valeurs du pH des 3 formules de Mayonnaise préparées

	1 <sup>ère</sup> mesure (Juste après préparation de la sauce)		2 <sup>ème</sup> mesure (Après conservation de 15 jours)	
	Valeur du pH	Acidité en °D	Valeur du pH	Acidité en °D
<b>Echantillon 1</b> (Mayonnaise témoin)	<b>3.32 ± 0,11</b>	<b>18</b>	<b>3.03</b>	<b>20</b>
<b>Echantillon 2</b> (Mayonnaise avec 1% de spiruline)	<b>3.38 ± 0,09</b>	<b>20</b>	<b>2.99</b>	<b>23</b>
<b>Echantillon 3</b> (Mayonnaise avec 2% de spiruline)	<b>3.41 ± 0,12</b>	<b>21</b>	<b>2.98</b>	<b>23</b>

## Conclusion

Le présent travail, répond à un objectif d'évaluation de l'activité antioxydante de la spiruline ainsi que son activité antibactérienne vis-à-vis de quelques souches pathogènes. Une dualité fonctionnelle qui fait de lui un ingrédient de grand intérêt pour l'industrie agroalimentaire.

C'est une étude qui répond aussi à un autre objectif de valorisation de la spiruline en tant que valeur ajoutée dans un aliment (sauce froide de type mayonnaise dans le cadre de cette étude) et l'impact de son incorporation sur la qualité gustative et organoleptique du produit obtenu.

En effet, et d'après les résultats obtenus :

L'activité antioxydante confirmée par le test au DPPH, témoigne que cette microalgue constitue une bonne source d'antioxydants qui pourrait faire de lui une alternative à certains additifs synthétiques. Les résultats ont montré aussi une teneur appréciable de la spiruline en polyphénols et une activité antibactérienne affirmée contre certaines souches pathogènes. Un constat certifié par plusieurs références bibliographiques et connaissances scientifiques.

Ainsi, les résultats des différentes analyses physicochimiques témoignent de la stabilité du produit à travers les valeurs de pH (relativement faible) et de l'acidité Dornic obtenus. Ils constituent à eux deux, un facteur dans la réduction du taux et de la gamme des microorganismes pouvant se développer sur le produit.

L'évaluation sensorielle de la Mayonnaise a permis de montrer l'acceptabilité du produit additionnée en Spiruline par le consommateur, malgré les appréciations plus ou moins négative de quelques dégustateurs sur la couleur du produit.

Enfin et au vu des propriétés nutritionnelles sans égal de la spiruline, ainsi que du nombre croissant de publications scientifiques qui analysent tel ou tel aspect, il apparaît clairement que la spiruline devrait connaître ces prochaines années un développement très important, plus particulièrement dans les pays en voie de développement.

- Compte tenus des multiples vertus attribués à la spiruline, le travail devrait être complété et poursuivi. En plus de l'activité antioxydante et antibactérienne de la spiruline, plusieurs autres activités biologiques restent à confirmer tels que : l'activité anticoagulante. Nous envisageons dans le futur l'incorporation de la spiruline dans l'alimentation des animaux d'élevage et en aquaculture. La spiruline peut également être utilisée comme colorant naturel ou engrais naturel..... etc.

# Références bibliographiques

---

- ✓ **ABEER A., DOAA M., EMAN M., 2015** : Antioxidant and Anticancer Activity of *Spirulina platensis* Water Extracts, Department of Biology, Article, International Journal of Pharmacology 11 (7) : 846-851, 2015 ISSN 1811-7775.
- ✓ **AHOUNOU M. N., 2018** : La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40.
- ✓ **AL GHANAYEM A. 2017** : Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Extracts Against Certain Pathogenic Bacteria and Fungi ; Original Article, Advances in Bioresearch, Journal's URL : [http : // www.soeagra.com / abr.html](http://www.soeagra.com/abr.html), Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, Shaqra University, Shaqra, Kingdom of Saudi Arabia.
- ✓ **ALLEGRET J., BERNIER M., HAYOUN A., LAW L., 2008** : Modèle et Modélisation, Quels sont les Facteurs pour Obtenir une Bonne Emulsion Froide Type Mayonnaise ? Publication.
- ✓ **ANDREANI C. G., 2012** : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.
- ✓ **BANKS J., 2007** : Etude de la Spiruline au Palacret, Etudier la Faisabilité de la Mise en Place d'une Filière Spiruline sur le site du Palacret, dans les Côtes d'Armor, Manuel, p 10, 11.
- ✓ **BARTH AND LEO, 2019** : Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, <https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits/>
- ✓ **BIBETTE J., 1996** : Emulsions : Concepts de Base et Applications, Livre, Edition Dunod, p 23.
- ✓ **BOUDAUD S., 2016** : l'Incorporation de la Spiruline sur les Qualités Nutritionnelles, Organoleptiques et Technologiques du Couscous Artisanal, Mémoire de Master en Agronomie, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, p 35.
- ✓ **BOUTALBI S., 2014** : Criblage Chimique et l'Activité Biologique de Spiruline (*Arthrospira platensis*), Mémoire de Master Académique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université KASDI MERBAH OUARGLA, p. 19, 20.
- ✓ **BOUYER E. J., 2011** : Stabilisation d'Emulsions d'Intérêt Pharmaceutique par des Protéines et des Polysaccharides, Thèse de Doctorat, Université Paris – Sud 11, Ecole Doctorale : Innovation Thérapeutique : du Fondamental à l'Appliqué, p 14, 23.
- ✓ **CANSELIER J. P., POUX M., 2004** : Procédés d'Emulsification – Mécanismes de Formation des Emulsions, Article.

- ✓ **CASAL A., 2019** : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, [www.spirulinefrance.fr](http://www.spirulinefrance.fr)
- ✓ **CHAKRABORTY B., RAJESH P., PRANAY P., 2015** : Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Extract Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria- A Comparative Study Available online on [www.ijcpr.com](http://www.ijcpr.com) International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research ; 6(4) ; 212-214, Research Article.
- ✓ **CHARPY L., LANGLADE M. J., ALLIOD R., 2008** : La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16.
- ✓ **DOUMEIX O., 2011** : Les Emulsions, Livre, Editeur CRDP D'AQUITAINE, Collection Biologie Technique, ISBN 9782866175948, p 12.
- ✓ **ELYAH A., 2003** : Quel avenir pour la spiruline, Mémoire bibliographique, Université de Montpellier II, Institut National des Sciences et Techniques de la Mer, p 3.
- ✓ **FALQUET J., HURNI J. P., 2006** : Spiruline, Aspects Nutritionnels, Article scientifique, Researchgate, p 3 – 16.
- ✓ **FARDET A., DUPONT D., SOUCHON I., 2013** : Structure des Aliments et Effets Nutritionnels, Edition Quae, RD 10, 78026 Versailles Cedex. p 451.
- ✓ **FEDALIM., 2019** : Pôle de Regroupement de Fédérations ou Syndicats Professionnels de l'Industrie Alimentaire, La Mayonnaise, Actualités, Internet : [www.fedalim.net](http://www.fedalim.net).
- ✓ **FERHAT Z., NAIT RABAH S., IDTALEB A., 2016** : Etude de Marché de la Mayonnaise, Rapport, Université de Lille, p.3.
- ✓ **Fox, RD., 1999** : La spiruline (Technique, pratique et promesse), Édition sud, Aix-en Provence.
- ✓ **GIRARD M., 2000** : Etudes des Propriétés Emulsifiantes d'un Complexe de Protéines de lactosérum et de Carboxy-méthyl-cellulose, Mémoire Présenté à la Faculté des Etudes Supérieures de l'Université Laval pour l'Obtention du Grade de Maître ès Sciences, Université Laval, p. 11.
- ✓ **GOULAMBASSE T. R., 2018** : La Spiruline : Activités Thérapeutiques et son Intérêt dans la Lutte contre la Malnutrition à Madagascar, Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, université de Lille, p 9-16, 46.
- ✓ **HAJATI H., MOJTABA Z., 2019** : *Spirulina platensis* in Poultry Nutrition, Cambridge Scholar Publishing, Livre, p 20.
- ✓ **HAMOUDA A. I., DOUMANDJI A., 2015** : Etude de l'Influence *in vitro* de la Spiruline sur la Croissance des Bifidobactéries, Article Scientifique, Revue Agrobiologia (2016), Volume 6.

- ✓ **HERVE T., 2015** : Nourrir l'Humanité « Les Emulsions : Une Histoire de Mayonnaise vue par la Science », Rapport, Centre de recherche Inra de Paris, p 1-5.
- ✓ **JOURDAN J. P., 2006** : Manuel de culture artisanale de la spiruline.
- ✓ **KAHKONEN M. P., HOPIA A. I., VUORELA H. J., RAUHA J.P., PIHLAJA K., KUJALA T.S. AND HEINONEN M., 1999** : Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem., 47 : 3954-3962.
- ✓ **KAUSHIK P., CHAUHAN A., 2008** : In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of *Spirulina platensis*. Indian J. Microbiol. 48 :348–352.
- ✓ **KONE S., 2001** : Fabrication Artisanale de la Mayonnaise, Site web : <http://www.gtz.de/gate/>
- ✓ **KONE S., 2011** : Fabrication Artisanale de la Mayonnaise, Revue, Gate Information Service, Internet : <http://www.gtz.de/gate>.
- ✓ **LE BRAS Q., RITTER L., FASQUEL D., LESUEUR M., LUCAS S., GOUIN S., 2016** : Etude de la consommation des algues alimentaires en France. Programme IDEALG Phase 1. Etude nationale.
- ✓ **LECOINTRE R., 2017** : Optimisation de la production de spiruline dans une ferme à Madagascar afin de lutter contre la malnutrition infantile, Mémoire d'Ingénieur, Agroalimentaire, Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantiques, p 5.
- ✓ **LEROUX H., 1998** : Les Additifs, Dossier Scientifique de l'IFN N° 10, p 50.
- ✓ **MANET A., 2016** : La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine, Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'état, Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble, p 12.
- ✓ **MICHAUX F., 2018** : Les Emulsions Alimentaires et Cosmétiques, Projet Professionnel, Université de Lorraine, Laboratoire d'Ingénieurs des Biomolécules, p 6.
- ✓ **MICHKA, 2005** : La spiruline pour l'homme et la planète, Terra Magna Georg.
- ✓ **MIRANDA M. S., CINTRA R. G., BARROS S. B., 1998** : Antioxydant Activity of the Micoalga *Spirulina maxima*, Braz J Med Biol Res, 1998 ; 31: 1075-9.
- ✓ **NIANGORAN N'GORAN U. F., 2017** : Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Université Toulouse 3, Paul Sabatier, p 39.
- ✓ **NOVALES B., PAPINEAU P., SIRE A., AXELOS M., 2009** : Caractérisation d'Emulsions et de Suspensions par Analyse d'Images Vidéo, Les Cahiers des Techniques de l'INRA, p 45.

- ✓ **OULD BELLAHCEN T., BOUCHABCHOUB A., MASSOUI M., EL YACHIOUI M., 2013** : Qualité Nutritionnelle de *Spirulina Platensis* en Croissance dans les Eaux Usées Domestiques, Laboratoire de biochimie Générale et de biologie moléculaire, Institut Agronomique Vétérinaire Hassan II, BP. 6202, Rabat, Maroc. p 123-129.
- ✓ **PERRAULT A., 2013** : Des Emulsions Stabilisées sans Tensioactifs, Article Scientifique.
- ✓ **PERRAULT A., 2017** : A la Recherche de Nouveaux Caroténoïdes Super Antioxydants, Portail Actus, INRA, Université d'Avignon, France.
- ✓ **PIERAT N., 2010** : Préparations d'Emulsions par Inversion de Phase Induite par Agitation, Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré, NANCY 1, Faculté de pharmacie, p 7.
- ✓ **POPOVICI C., 2009** : Evaluation de l'Activité Antioxydant des Composés Phénoliques par la Réactivité avec le Radical Libre DPPH, Publication Researchgate, p 27, 28.
- ✓ **PROTAT M., 2017** : Formation d'Emulsions Multiples Stimulables en une seule Etape d'Emulsification : Effet du Sel et Evolution vers des Architectures Biocompatibles, Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie, Ecole Doctorale Physique et Chimie des Matériaux, Spécialité Physico-chimie des Polymères, p 7 -27.
- ✓ **QURESHI M. A., HUNTER R., 1995** : Proc 44th.Western Poultry Disease Conference, Sacramento, California, p 117- 121.
- ✓ **SALL M.G., DANKOKO B., BADIANE M., EHUA E., KUWAKUWI N., 1999** : La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Dakar, Sénégal, Article 46 (3).
- ✓ **SERIEYE S., 2012** : Intégration de Molécules Fonctionnelles dans des Auto-assemblages Emulsionnés de Monoglycérides : Evolution Structurale et Rôle de l'Interface, Thèse de Doctorat, Ecole Doctorale Sciences et Technologies, Centre de Recherche sur la Matière Divisée, Université d'Orléans, p 9.
- ✓ **SGUERA S., 2008** : *Spirulina Platensis* et ses Constituants, Intérêts Nutritionnels et Activités Thérapeutiques, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.
- ✓ **SHMITZ T., 2014** : Les Incroyables Propriétés de la Phycocyanine, Principe de santé, Revue N° 72.
- ✓ **TALBI H., BOUMAZA A., EL MOSTAFA K., TALBI J., HILALI A., 2014** : Evaluation de l'Activité Antioxydante et la Composition Physico-chimique des Extraits Méthanolique et Aqueux de la *Nigella sativa L.* (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa L.*), Article, Paru dans le journal JMES, Mater. Environ. Sci. 6 (4) (2015) 1111-1117, ISSN : 2028-2508 CODEN : JMESCN.

- ✓ **THARWAT F T., 2016** : Emulsions : Formation, Stability, Industrial Application, Livre, Editeur : DE GRUYETER, p 16, 17.
- ✓ **TREMBLIN G., MOREAU B., 2017** : La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle ? Article, Le Mans Université.
- ✓ **VALIK M., 2017** : Assignmet on Mayonnaise.
- ✓ **VICENTE N., 2012** : La Spiruline pour la Nutrition et la Santé, p 1-4.
- ✓ **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., 2002** : *Spirulina platensis (Arthrospira)* : Physiology, Cell-biology and Biotechnology, p 1-17.
- ✓ **YOUGBARE I., 2007** : Impact de la Prise Quotidienne de *Spirulina platensis* sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience à Burkina Faso, Mémoire pour l'Obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, p11.

# Annexes

## Annexe 1

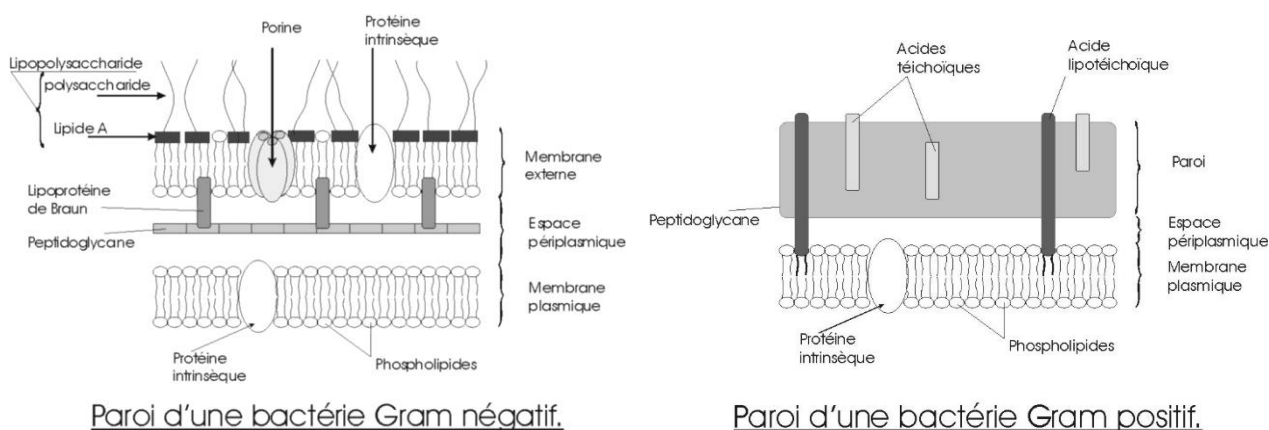
### 1- La coloration de Gram

#### A- Principe

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer, des milieux à ensemencer etc...

Au terme du processus de coloration, les bactéries dites « Gram Négatives » apparaissent roses tandis que les bactéries dites « Gram Positives » sont colorés en bleu foncé/violet (*rem : certaines bactéries telles que les Bacillus, apparaissent parfois roses et violettes sur le même frottis, on les dit « Gram labiles » et les différences de coloration sont dues à des différences d'âge des bactéries*)

La coloration de Gram est une coloration qui teste l'alcool résistance d'une souche bactérienne. En effet, les différences de coloration des bactéries reposent sur des différences de constitution de la paroi :



Les bactéries Gram négatives ont une paroi plus fine que celles à Gram positives. De plus, cette paroi est très riche en lipides (membrane externe de la paroi) dans laquelle l'éthanol est fortement soluble...

#### B- Technique

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Coloration : **violet de gentiane phéniqué durant une minute**. Toutes les bactéries prennent ce colorant et sont donc colorées en violet.
- rincer à l'eau du robinet
- Mordançage : recouvrir la lame de **réactif de Lugol 1 minute** (réactif iodo-ioduré qui accentue la coloration).
- Rincer à l'eau
- Epreuve (alcool résistance) : **Plonger 3 ou 4 fois une demi-seconde dans un pot d'alcool** puis rincer à l'eau du robinet immédiatement. Pendant cette étape, les lipides

de la paroi des Gram moins sont dissous et l'alcool peut donc pénétrer dans le corps bactérien et expulser le violet de gentiane. Les bactéries Gram moins sont alcoolo-sensibles et sont donc décolorées. La paroi des Gram plus ne laisse pas passer l'alcool et sont dites alcoolo-résistantes et restent colorées en violet.

- Contre coloration : **Fuschine diluée au 1/20<sup>ème</sup> ou de safranine pendant une minute.** Toutes les bactéries prennent le colorant mais le violet masque la fuschine. Les « Gram positives » apparaissent donc violettes, les « Gram négatives », recolorées par la fuschine, apparaissent roses.
- Rincer à l'eau du robinet et sécher entre deux feuilles de papier absorbant.
- Observer à l'objectif 100 à immersion, à pleine lumière.

*Remarque : la coloration de Gram est parfois appelée **coloration V.L.A.F** afin de se rappeler les colorants et dans quel ordre ils doivent être utilisés (Violet, Lugol, Alcool, Fuschine).*

## Annexe 2

### 2- La composition des milieux de culture ([www.biokar-diagnostics.fr](http://www.biokar-diagnostics.fr))

Toutes les compositions sont pour la préparation d'un litre de milieu.

#### Gélose Chapman

- Peptone..... 10,0 g
  - Extrait de viande de bœuf..... 1,0 g
  - Chlorure de sodium..... 75,0 g
  - Mannitol ..... 10,0 g
  - Rouge de phénol..... 0,025 g
  - Agar-Agar ..... 15,0 g
  - Eau distillée qsp ..... 1 Litre
- pH = 7,4

#### Gélose Mac-Conckey

- Peptone pancréatique de gélatine ..... 17,0 g
  - Tryptone ..... 1,5 g
  - Peptone pepsique de viande..... 1,5 g
  - Lactose ..... 10,0 g
  - Sels biliaires ..... 1,5 g
  - Chlorure de sodium..... 5,0 g
  - Rouge neutre ..... 30,0 mg
  - Cristal violet..... 1,0 mg
  - Agar agar bactériologique ..... 13,5 g
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

#### Gélose Mueller – Hinton

- Hydrolysât acide de caséine ..... 17,5 g
  - Infusion de viande ..... 2,0 g
  - Amidon soluble..... 1,5 g
  - Agar agar bactériologique..... 17,0 g
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

#### Bouillon nutritif

- Tryptone ..... 10,0 g
- Extrait de viande ..... 5,0 g
- Chlorure de sodium..... 5,0 g

## Annexe 3

### QUESTIONNAIRE D'ANALYSE SENSORIELLE DE LA MAYONNAISE

Age : .....

Sexe : .....

Nous vous proposons de déguster plusieurs échantillons de Mayonnaise codés A, B, C, D, donner votre avis sur leur qualité sensorielle. Il vous est demandé d'attribuer une note (de 1 à 4) qui correspond à votre niveau de satisfaction pour chaque critère.

#### 1 - La couleur de la Mayonnaise

1 : Non appréciée

2 : Peu appréciée

3 : Moyennement appréciée

4 : Bien appréciée

A	B	C	D

#### 2 - L'arôme de la Mayonnaise

1 : Non apprécié

2 : Peu apprécié

3 : Moyennement apprécié

4 : Bien apprécié

A	B	C	D

#### 3-La consistance de la Mayonnaise

1 : Non apprécié

2 : Peu apprécié

3 : Moyennement apprécié

4 : Bien apprécié

A	B	C	D

#### 3- Le goût de la Mayonnaise

1 : Non apprécié

2 : Peu apprécié

3 : Moyennement apprécié

4 : Bien apprécié

A	B	C	D

#### 5-L'acidité de la Mayonnaise

1 : Non appréciée

2 : Peu appréciée

3 : Moyennement appréciée

4 : Bien appréciée

A	B	C	D

**9- Attribuez une note de 1 à 8 pour chaque échantillon selon votre préférence, (1 pour le produit le moins préféré et 8 au produit le plus préféré comme présenté dans l'échelle ci-dessous).**

- 1 : Extrêmement désagréable
- 2 : très désagréable,
- 3 : Désagréable,
- 4 : Assez désagréable
- 5 : Ni agréable ni désagréable,
- 6 : Agréable,
- 7 : Très agréable
- 8 : Extrêmement agréable

Mayonnaise	A	B	C	D
Note				

**10- Quels sont les critères qui ont motivé votre préférence ?**

- La couleur
- L'arôme
- Le goût
- L'acidité
- La consistance
- Autres (précisez)

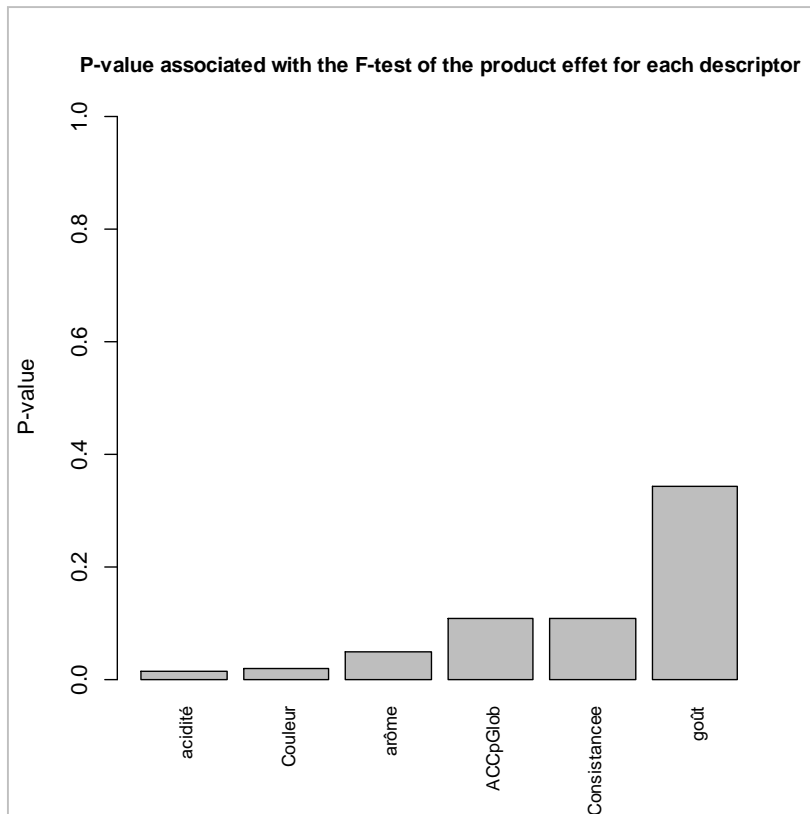
## Annexe 4

**Tableau 7.** Résultats de l'analyse sensorielle des trois types de Mayonnaise.

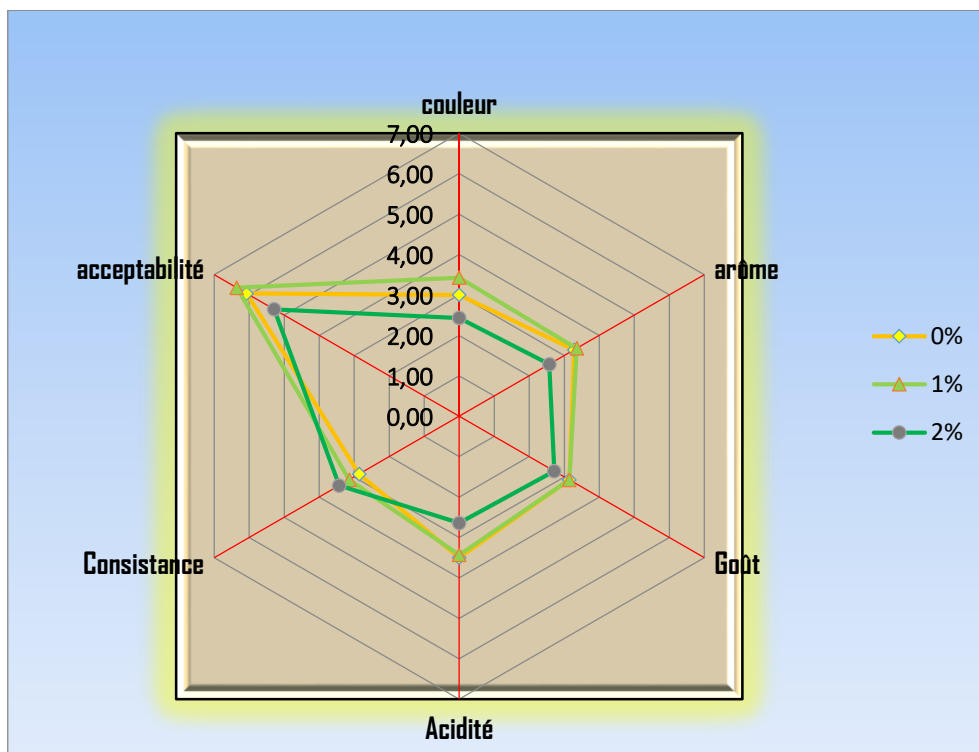
Critère	0% Sp	1% Sp	2% Sp	X <sup>2</sup> de Friedman et Signification
<b>Couleur</b>	3.00±0.87	3.43±0.51	2.43±1.16	3.81ns
<i>Rang moyen</i>	1.93	2.39	1.68	
<b>Arôme</b>	3.29±0.82	3.36±0.84	2.57±1.01	4.48ns
<i>Rang moyen</i>	2.14	2.29	1.57	
<b>Goût</b>	3.14±0.77	3.14±0.86	2.71±0.99	0.80ns
<i>Rang moyen</i>	2.04	2.14	1.82	
<b>Acidité</b>	3.50±0.65a	3.43±0.85a	2.64±0.93b	8.72**
<i>Rang moyen</i>	2.29	2.29	1.43	
<b>Consistance</b>	2.86±0.66	3.14±0.36	3.43±0.94	4.96ns
<i>Rang moyen</i>	1.64	1.93	2.43	
<b>Acceptabilité</b>	6.07±0.83	6.36±0.63	5.29±2.09	1.05ns
<i>Rang moyen</i>	1.89	2.21	1.89	

*a,b les moyennes sont significativement différentes selon le test de Wilcoxon (p=0.032)*

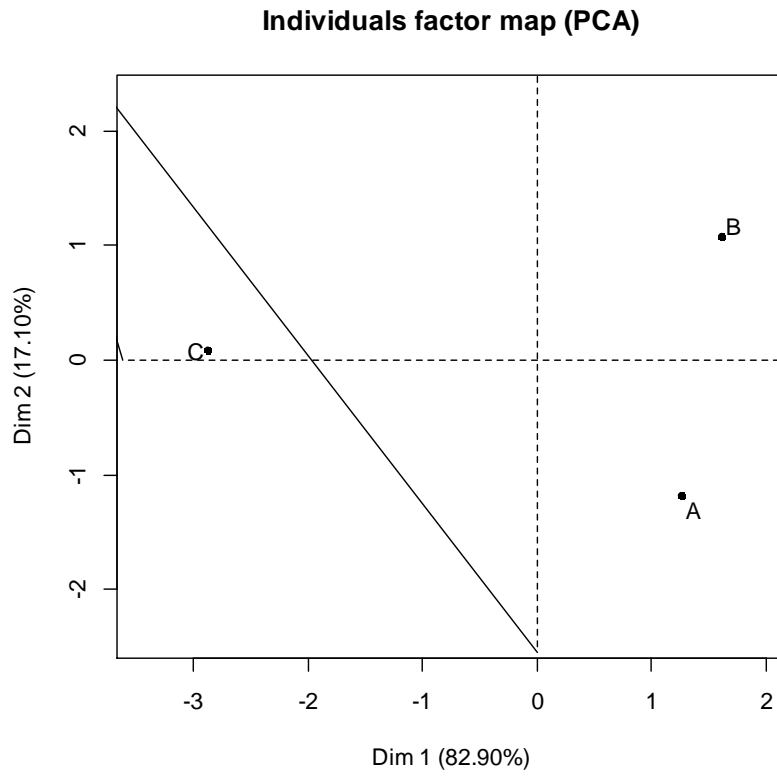
Selon les résultats de l'évaluation sensorielle réalisée par des panelistes naïfs (tableau 7 ci-dessus et figure 24) sur la qualité des trois types de Mayonnaise, hormis le paramètre Acidité, nous n'avons pas constaté de différences significatives ( $p > 0.05$ ) entre les 3 produits fabriqués pour ce qui concerne les autres critères: couleur, arôme, goût, consistance et acceptabilité globale. L'appréciabilité de la Mayonnaise additionnée avec de la spiruline ne fait donc pas défaut par sa couleur. Nos résultats recourent les travaux de Doumandji et *al.*, (2011), Dahloum et *al.*, (2014) et Boudaoud (2016) sur le couscous enrichi par la spiruline. Selon ces mêmes auteurs, la couleur ne risque pas d'influencer le choix du consommateur puisqu'il existe une gamme très riche sur le marché algérien de couscous de couleur plus foncée (couscous Lahlou) très appréciés depuis leur commercialisation.



**Figure 24.** Probabilité critique associée au test F pour l'effet du produit sur chaque descripteur.



**Figure 25.** Note moyenne obtenue du test hédonique par produit par descripteur.



**Figure 26.** Présentation des 3 produits de Mayonnaise sur le 1<sup>er</sup> plan factoriel.

ان الهدف من هذا الدراسة، هو تقييم تأثير السبيرولينا كمكون اضافي على جودة المايونيز ، وتحديد فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا ضد سلالتين إيجابيتين احدهما سالبة الجرام وأخرى موجبة الجرام تم اختيارهما للاختبار.

ان تحديد القدرة أو الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلص الميثانول للطحلب المجهرى من نوع السبيرولينا، والذي تم تنفيذه بواسطة طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH، أعطى نتائج جيدة (ملغ/مل = 0,160 IC 50 ) وبين ثراء المستخلص من مركبات البوليفينول (1,6 ملغ EAG / غ مادة جافة) بعد التقدير الكمي لهاته الأخيرة بواسطة طريقة قياس الألوان أو Folin-Ciocalteu.

أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا تأثيرًا مثبطًا للسبيرولينا ضد السلالتين المختبرتين (*Staph aureus* و *E. coli*) مع تأثير أكبر بقليل على سلالة *Staph. aureus* (18مم) مقارنةً بسلالة *E. coli* (17مم).

سمح لنا التقييم الحسي لعينات المايونيز المخصبة بالسبيرولينا، باستنتاج بقاءها موضع تقدير من قبل المتذوقين رغم اللون غير الاعتيادي لها من خلال استبيان أنشئ في هذا الاتجاه.

كشفت تحليل الـ pH ودرجة حموضة دورنيك لعينات المايونيز من اظهار انخفاض في الـ pH مصحوب بارتفاع في درجة الحموضة. وقد لوحظ هذا بشكل واضح بالنسبة للعينات التي اضيفت لها السبيرولينا مقارنة بالعينة الشاهد.

**الكلمات المفتاحية:** سبيرولينا، الفاعلية المضادة للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، البوليفينول، المايونيز.

## Résumé

L'objectif du présent travail consiste à évaluer l'impact de l'incorporation de la spiruline comme additif sur la qualité organoleptique et physicochimique de la Mayonnaise artisanale et déterminer son pouvoir antioxydant et antibactérien contre deux souches Gram positive et Gram négative choisies pour le test.

L'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique de spiruline, réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré une bonne efficacité antioxydante (IC50 = 0,160mg/ml) et une richesse de l'extrait en polyphénols (1,6 mg EAG/g MS) après estimation quantitative par la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu.

Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré un effet inhibiteur de la spiruline contre les deux souches testées (*E. coli* et *Staph. aureus*) avec un effet légèrement plus important contre la souche *S. aureus* (18mm de diamètre) par rapport à la souche *E. coli* (17mm de diamètre).

L'évaluation sensorielle a montré que de la Mayonnaise additionnés par la spiruline à raison de 1% et 2% a été appréciée par les consommateurs et ne fait pas défaut par sa couleur notamment. L'analyse du pH et de l'acidité Dornic des échantillons de Mayonnaise ont permis de mettre en évidence une évolution décroissante du pH accompagné d'une variation croissante de l'acidité Dornic.

**Mots clés :** Spiruline, Pouvoir antioxydant, Activité antimicrobienne, polyphénols totaux, Mayonnaise.

## Summary

The objective of this work is to evaluate the impact of incorporating spirulina as an additive on the organoleptic quality of prepared Mayonnaise and to determine its antioxidant and antibacterial properties against two Gram-positive and Gram-negative strains selected for the test.

The evaluation of the antioxidant power of the methanol extract of spirulina, carried out by the DPPH free radical scavenging method, showed a good antioxidant efficacy (IC50 = 0.160 mg / ml) and a richness of the polyphenol extract (1, 6 mg EAG / g MS) after quantitative estimation by Folin-Ciocalteu colorimetric method.

The results of the antibacterial activity showed an inhibitory effect of spirulina against the two strains tested (*E. coli* and *Staph aureus*) with a slightly greater effect against the *Staph. aureus* strain (18mm in diameter) compared to the *E. coli* strain (17mm in diameter).

The sensory evaluation of our Mayonnaise samples added by Spirulina is not lacking in its color and is still appreciated by the tasters through a questionnaire established in this way. Analysis of the pH and Dornic acidity of our Mayonnaise samples revealed a decreasing pH evolution accompanied by an increasing variation in Dornic acidity. A significant variation in samples with spirulina added to the control sample.

**Key words :** Spirulina, Antioxidant potency, Antimicrobial activity, Total polyphenols, Mayonnaise.