



N° d'ordre :

N° de série:

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حممة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité: Biochimie appliquée

THEME

Contribution à l'étude chimique et de l'activité antioxydant et
antisolaires des extraits de la souche *Arthrospira platensis* cultivé
dans deux régions X_1 , X_2 .

Présenté Par :

M^{elle} BENKADDOUR Ikram

M^{elle} MOKADDEM Selsabil

M^{elle} BOUZEGAG thara

Devant le jury composé de :

Président : M^{elle} BOUAFIANE Mabrouka

M.C.A Université d'El Oued.

Examineur : Mr HADDAD Larbi

M.C.B Université d'El Oued.

Promotrice : Mr KIRAM Abderrazak

M.A.A Université d'El Oued.

Année universitaire 2021/2022

Résumé

L'objectif de notre travail est l'étude de l'activité biologique (antioxydante, antisolaire) des différents extraits de l'espèce microalgale *Arthrospira platensis* cultivé en deux régions X₁ et X₂ (spiruline X₁ et X₂)

Le screening chimique s'effectue à travers la détection chimique des extraits préparés par 3 méthodes : macération, infusion et décoction, car cela a révélé la supériorité de spiruline X₁ sur X₂.

Nous avons extrait quelques composés bioactifs par la macération. Le rendement des extraits montre que les résultats méthanolique brut supérieurs au reste des extraits. Entre eux, l'extrait méthanolique brut supérieur à spiruline X₁ (64%).

En quantifiant la teneur en polyphénols, flavonoïdes et tanins, nous avons enregistré que les résultats des extraits méthanolique brut supérieurs au reste des extraits. Entre eux, l'extrait méthanolique brut supérieur à spiruline X₁ (62.656 µg AG/g).

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par des tests : DPPH•, Capacité antioxydante total (CAT). Le test de radicaux libres DPPH a montré que les résultats de l'extrait flavonoïde d'*Arthrospira* X₂ étaient supérieurs au reste des extraits (IC₅₀= 25.645 µg/ml), et pour le teste de CAT que la valeur de l'extrait brut (PPT) de la spiruline cultivée dans la région X₁ (385 mg ER/g d'extrait) Supérieure au reste des extraits.

Dans le test d'activité anti-solaire, la valeur la plus élevée de SPF a été enregistrée pour les extraits de tanins avec des valeurs de SPF estimées à 5.448, 5.664 pour spiruline X₁, X₂ respectivement.

Enfin, l'*Arthrospira platensis* est riche en composés bioactifs et possède une activité antioxydante et antisolaire utilisable dans le domaine médical et nutritionnel.

Les mots clés : *Arthrospira platensis*, Screening chimique, polyphénols, flavonoïdes, tanins, Antioxydante, Antisolaire, Algérie.

الملخص

الهدف من عملنا هو دراسة النشاطية البيولوجية (مضادات الأكسدة، واقى الشمس) للمستخلصات المختلفة لنوع الطحالب المجهرية *Arthrospira platensis* المزروعة في منطقتين X1 وX2 (سبيرولينا X1 وX2).

يتم الفرز الكيميائي من خلال الكشف الكيميائي للمستخلصات المحضرة بثلاث طرق: النقع، النقع الساخن والغلي، في هذا الكشف تفوقت سبيرولينا X1 على X2.

استخلصنا بعض المركبات النشطة بيولوجيا عن طريق النقع. يوضح مردود المستخلصات أن نتائج المستخلص الميثانولي الخام تفوقت على باقي المستخلصات. فيما بينها، يتفوق المستخلص الميثانولي الخام لسبيرولينا X1 (64%).

من خلال قياس محتوى البوليفينول والفلافونويد والعفص، سجلنا أن نتائج المستخلصات الميثانولية الخام تفوقت على بقية المستخلصات. فيما بينهما، يتفوق المستخلص الميثانولي الخام لسبيرولينا X1 (62.656 ميكروغرام AG / جم).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة في مستخلصاتنا عن طريق الاختبارات: DPPH •، القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT). أظهر اختبار الجذور الحرة DPPH أن نتائج مستخلص الفلافونويد ل *Arthrospira* X2 تفوقت على باقي المستخلصات ($IC_{50} = 25.645$ ميكروغرام / مل)، وبالنسبة لاختبار CAT قيمة المستخلص الخام (PPT) من سبيرولينا X1 (385 مجم من المستخلص) متفوقة على باقي المستخلصات.

في اختبار النشاط الواقي من الشمس، تم تسجيل أعلى قيمة SPF لمستخلصات التانين مع قيم SPF المقدرة بـ 5.448، 5.664 لسبيرولينا X1، X2 على التوالي.

أخيرًا، فإن *Arthrospira platensis* غنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا ولها نشاط مضاد للأكسدة وواقى من الشمس ويمكن استخدامها في المجال الطبي والتغذوي.

الكلمات المفتاحية *Arthrospira platensis* ، الفحص الكيميائي، متعدد الفينول، فلافونويد، العفص، ضد الأكسدة، واقى شمسي، الجرانر.

Abstract

The objective of our work is the study of the biological activity (antioxidant, sunscreen) of the different extracts of the microalgal species *Arthrospira platensis* cultivated in two regions X1 and X2 (spirulina X1 and X2)

The chemical screening is carried out through the chemical detection of the extracts prepared by 3 methods: maceration, infusion and decoction, because this revealed the superiority of spirulina X1 over X2.

We extracted some bioactive compounds by maceration. The yield of the extracts shows that the crude methanolic results superior to the rest of the extracts. Between them, the crude methanolic extract superior to spirulina X1.(%64)

By quantifying the content of polyphenols, flavonoids and tannins, we recorded that the results of the crude methanolic extracts were superior to the rest of the extracts. Between them, the crude methanolic extract superior to spirulina X1 (62.656 µg AG/g).

The antioxidant activity of our extracts has been evaluated by tests: DPPH•, Total antioxidant capacity (CAT). The DPPH free radical test showed that the results of the flavonoid extract of *Arthrospira* X2 were superior to the rest of the extracts (IC₅₀= 25.645 µg/ml), and for the CAT test that the value of the crude extract (PPT) of spirulina grown in the X1 region (385 mg RE/g of extract) Superior to the rest of the extracts.

In the sunscreen activity test, the highest SPF value was recorded for tannin extracts with SPF values estimated at 5.448, 5.664 for spirulina X1, X2 respectively.

Finally, *Arthrospira platensis* is rich in bioactive compounds and has antioxidant and sunscreen activity that can be used in the medical and nutritional field.

Key word: *Arthrospira platensis*, chemical screening, polyphenol, flavonoids, tannins, antioxidant, antisolar, Algeria.

Liste des abréviations

- **AMP** : Adénosine monophosphate.
- **CAT** : La capacité antioxydante totale.
- **DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil.
- **FVT** : flavonoïdes.
- **IC₅₀** : concentration inhibitrice de 50 %.
- **PPT** : polyphénols totaux.
- **RNS** : Reactive Nitrogen specieset
- **ROS** : reactive oxygen specieset.
- **TC** : Tanins condensés.
- **UDP-glu** : Uridine diphosphate glucose.
- **UV** : rayonnement ultraviolet.
- **VIH** : virus de l'immunodéficience humaine.

Liste des figures

N°	Liste des photos	Page
01	Micrographie électronique du trichome	7
02	Cycle de vie d' <i>Arthrospira platensis</i>	8
03	Evolution de la production mondiale de Spiruline d'après l'étude réalisée en 2000 par Tractebel Consult en association avec le Centre Universitaire de Biotechnologie Algale (CUBIA)	12
04	Structure de noyau phénol	15
05	a) Noyau flavane; b) Noyau flavone; c) Squelette de base des flavonoïdes.	17
06	Structure du squelette de base des flavonoïdes et leurs classes	22
07	Classes, sous-classes et sources naturelles de flavonoïdes	23
08	Substitution d'un sucre sur l'aglycone	24
09	La biosynthèse des flavonoïdes	27
10	(a) piégeage des ROS (R') par les Flavonoïdes (FI-OH) et (b) sites de liaison pour les métaux traces où Me^{n+} indique les ions métalliques	28
11	Structure de quelques tanins	32
12	Structure chimique de tanins hydrolysables, galliques	33
13	Quelques produits : alimentaires commerciaux contenant de l' <i>Arthrospira</i> : (A) ; poudre de spiruline (B); pains plats roulés contenant de la spiruline (C); Suspension de spiruline à utiliser dans les aliments et les boissons (D); Smoothie à la spiruline et aux fruits (E); Yaourt contenant de la chlorelle et de la spiruline (F) ;Chips de spiruline	38
14	Poudre de la spiruline cultivée en région X_1	45
15	Poudre de la spiruline cultivée en région X_2	45
16	Décocté à 10% des deux échantillons de <i>Arthrospira platensis</i> de deux régions X_1 et X_2	51
17	Infusés à 5% des deux échantillons de <i>Arthrospira platensis</i> de deux régions X_1 et X_2	51
18	Macéré des deux échantillons de <i>Arthrospira platensis</i> de deux régions X_1 et X_2	52
19	Tests chimique 1	56
20	Tests chimique 2	58

21	Tests chimique 3	59
22	Tests chimique 4	60
23	Protocole d'extraction des extraits bruts	61
24	Protocole d'extraction des flavonoïdes	62
25	Protocole d'extraction des tanins	63
26	Protocole de dosage des polyphénols et flavonoïdes et tanins condensés	67

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
01	Les diverses appellations de la spiruline	6
02	Taxonomie récapitulative	6
03	Morphologies typiques de la Spiruline	8
04	Profile nutritionnelle de <i>A.platensis</i> (par 100g)	9
05	Classification des composés phénoliques	16
06	Les outils, appareils, solutions et réactifs utilisés dans les tests phytochimique	46
07	Les outils, appareils et solutions utilisés d'extraction	47
08	Les outils, appareils et solutions utilisés dans Dosage quantitative des composés phénoliques	48
09	Les outils, appareils et solutions utilisés dans l'évaluation de l'activité antioxydante	49
10	Les outils, appareils et solutions utilisés dans l'évaluation de l'activité antioxydante.	50
11	Fonction produit normalisée utilisée dans le calcul de SPF	71

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicaces

Résumés

ملخص

Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Générale

Partie I

Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Présentation de la spiruline

(*Arthrospira platensis*)

I-1. Généralités 5

I-2. Taxonomie 5

I-3. Description morphologique 7

I-4. Cycle de vie 8

I-5. Reproduction..... 9

I-6. Composition biochimique..... 9

I-7. Culture 10

I-7-1. Facteurs climatiques 11

I-7-1-1. Température 11

I-7-1-2. Lumière 11

I-7-1-3. Salinité..... 12

I-7-1-4. PH..... 12

I-7.2 Production mondiale et régionale 12

Chapitre II

Flavonoïdes et tanins

II.1. Définition des métabolites secondaires.....	15
II.2. Présentation générale sur les polyphénols	15
II.2.1. Flavonoïdes	17
II.2.1.1. Structure chimique	17
II.2.1.2. Classification	18
II.2.1.2.1. Flavones	18
II.2.1.2.2. Flavonols.....	18
II.2.1.2.3. Flavanones	19
II.2.1.2.4. Isoflavonoïdes.....	19
II.2.1.2.5. Néoflavonoïdes	20
II.2.1.2.6. Flavanols, flavan-3-ols ou catéchines	20
II.2.1.2.7. Anthocyanes.....	20
II.2.1.2.8. Chalcones	21
II.2.1.3. Substitutions des flavonoïdes.....	24
II.2.1.3.1. Glycosylation	24
II.2.1.3.1.1 C- glycosylation	25
II.2.1.3.1.2. O- glycosylation.....	25
II.2.1.4. Biosynthèse	26
II.2.1.5. Activités biologiques des flavonoïdes	28
II.2.1.5.1. Activité anti- oxydant	28
II.2.1.5.2. Activité anti- inflammatoire.....	29
II.2.1.5.3. Activité anti- viral	30
II.2.1.5.4. Activité antibactérienne	31
II.2.2. Tanins.....	31

II.2.2.1 Classification	32
II.2.2.1.1 Tanins condensés (flavan-3-ols)	32
II.2.2.1.2 Tanins hydrolysables	33
II.2.2.2 Activité biologique des tanins.....	34

Chapitre III

L'utilisation de la spiruline dans l'aspect nutritionnel et activités thérapeutiques

I. Généralités sur l'utilisation de la Spiruline	37
II. Utilisation comme nourriture :.....	38
III. Activités thérapeutiques de la spiruline.....	40
III.1. Activité Antioxydant	40
III.3. Activité anti viral	41
III.4. Activité anti inflammatoire.....	41
III.5. Activité anti cancéreuse.....	42
III.6. Activité anti-anémique	43
III.7. Obésité	43

Partie II

_Chapitre I

Matériels et Méthodes

I.1. Matériel	46
I.1.1. Matériels biologiques	46
I.1.2. Matériel non biologique et équipement.....	47
I.1.2.1. Screening phytochimique	47
I.1.2.2. Extraction	48
I.1.2.3. Dosage quantitative des composés phénoliques.....	49
I.1.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante	50
I.1.2. 5. Evaluation de l'activité antisolaires.....	51
I.2. Méthodes	51
I.2.1. Screening phytochimique	51

I.2.1.1 Préparation des solutions à analyser	51
I.2.1.2. Détection des flavonoïdes	53
I.2.1.3. Détection des tanins	53
I.2.1.4 Détection des Alcaloïdes.....	53
I.2.1.5. Détection des phénols.....	54
I.2.1.6 Détection des Quinones.....	54
I.2.1.7 Détection des coumarines	54
I.2.1.8 Détection des Stérols et triterpènes	54
I.2.1.9. Détection des Composés réducteurs.....	55
I.2.1.10 Détection des Saponosides	55
I.2.2. Extraction des composés phénoliques.....	62
I.2.2.1.Préparation des extraits bruts (polyphénols)	62
I.2.2.2. Extraction des flavonoïdes	63
I.2.2.3. Extraction des tanins	64
I.2.3. Détermination du rendement d'extraction.....	65
I.2.4. Dosage des composés phénoliques	65
I.2.4.1. Dosage des polyphénols totaux	66
I.2.4.2. Dosage des Flavonoïdes.....	66
I.2.4.3. Dosage des Tanins condensés	66
I.2.5. Etude de l'activité biologique	69
I.2.5.1. Activité antioxydante	69
I.2.5.1.2. Test de capacité antioxydante totale (CAT).....	70
I.2.5.2. Activité antisolaire	71

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Screening chimique.....	75
II.2. Rendement des extraits obtenus.....	79
II.3. Analyse quantitative des composés phénoliques	80

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	80
II.3.2. Dosage des flavonoïdes	80
II.3.2. Dosage des tannins condensés	81
II.4. Activités biologiques	83
II.4.1. Activité antioxydante	83
II.4.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH	84
II.4.1.2. Test de capacité antioxydante totale (CAT).....	85
II.4.2. Activité antisolaires	87
Conclusion.....	90

Références bibliographiques

Annexe

Introduction Générale

Depuis l'aube de l'histoire, l'homme connaît les plantes et leurs divers bienfaits thérapeutiques. Grâce à l'observation, à l'expérimentation et à la recherche sur des milliers d'années, les connaissances sur les plantes médicinales et leurs propriétés curatives se sont accrues. Les anciens Chinois et Égyptiens excellaient dans la science de la phytothérapie. La médecine, car ils utilisaient beaucoup de ces herbes dans le traitement de nombreuses maladies en plus de leur utilisation dans la momification, ainsi que dans la parure et les cosmétiques (Maarouf, 2002 ; Ibrahim et al., 1988).

Les plantes médicinales occupent à l'heure actuelle une grande place dans la production agricole et industrielle et font l'objet d'un grand soin dans de nombreux pays qui les produisent. Les plantes contiennent un grand nombre de composés efficaces qui reflètent les avantages thérapeutiques de ces plantes. Par conséquent, les plantes médicinales sont parmi les matériaux stratégiques les plus importants de l'industrie pharmaceutique et représentent une base importante dans sa production (العابد, 2009).

Parmi les plantes médicinales Les microalgues, car ces organismes issus de la photosynthèse sont l'une des plus anciennes formes de vie sur Terre. Les microalgues sont des organismes eucaryotes unicellulaires dont la taille varie de quelques micromètres à plusieurs centaines de micromètres. Le terme « microalgues » comprend des groupes très divers tels que les algues vertes, les diatomées, les dinoflagellés et les coccolithophores, et se compose d'un nombre inconnu d'espèces estimées à des dizaines voire des centaines de milliers (De Clerck et al. 2013 ; Guiry 2012 ; Mata et al. 2010). Ils jouent un rôle essentiel dans la production primaire en les milieux aquatiques et contribuent à l'acquisition de dioxyde de carbone atmosphérique mondial. La valeur marchande de microalgues augmente de jour en jour ; par exemple, bon valeurs nutritionnelles (Becker 2007).

Au vu du grand nombre d'espèces de microalgues déjà étudiées, les cyanobactéries *Arthrospira platensis* a un rôle de premier plan pour sa haute valeur biologique en raison de la sa haute teneur en protéines, la présence d'acides gras polyinsaturés, de pigments, de minéraux et vitamines (Lourenço, 2006), *A. platensis* est une cyanobactérie filamenteuse connue sous le nom d'algue bleu-vert, qui est souvent utilisée comme protéine unicellulaire. Il a été désigné comme aliment santé par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et il a le potentiel de devenir l'un des meilleurs traitements alternatifs du XXIe siècle. De plus, selon les National Institutes of Health (NIH), *A. platensis* peut être utilisé comme traitement du

système nerveux et du métabolisme, y compris la perte de poids, le diabète et l'hypercholestérolémie. Et aujourd'hui, des sources scientifiques bien connues disent que la spiruline est un "super aliment" et un "miracle de la mer » (Seyidogluet al., 2017).

En Algérie vers 1980, lors d'une randonnée dans l'Atakor, (noyau du massif volcanique du Hoggar dans la région de Tamanrasset), le Dr Etienne Boileau, s'est aperçu qu'il y avait la présence d'algues assez particulières dans une guelta (point d'eau en montagne). Il a pensé à la spiruline, mais ne pouvait le confirmer étant donné qu'il n'avait pas l'équipement nécessaire pour le faire. Il préleva un échantillon qu'il remit au Dr R.D. Fox, auteur du livre " Algoculture : la spiruline, un espoir pour le monde de la faim " (Fox, 1986), qui confirma qu'il s'agissait bien de la spiruline. En 2004, suite à la confirmation de Dr Fox, cette souche a été prélevée et cultivée par M. Hiri Adeldkader, d'où son nom HTam diminutif de Hiri Tamanrasset. Actuellement, l'Algérie fait partie des rares pays dans le monde où l'on cultive de la spiruline au stade de production semi industrielle (Aouir, 2017).

Dans notre étude, y a-t-il une différence entre les extraits de spiruline (*Arthrospira platensis*) cultivé en Algérie ?

Donc notre travail vise à étudier une estimation chimique (screening chimique) de spiruline et à tester les métabolites secondaires qu'elle contient, ainsi qu'à en extraire certains composés phénoliques par la macération, ainsi qu'à déterminer la quantité des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins présents dans et en étudiant son activité biologique comme antioxydant et antisololaire.

Notre travail sera réparti en deux parties :

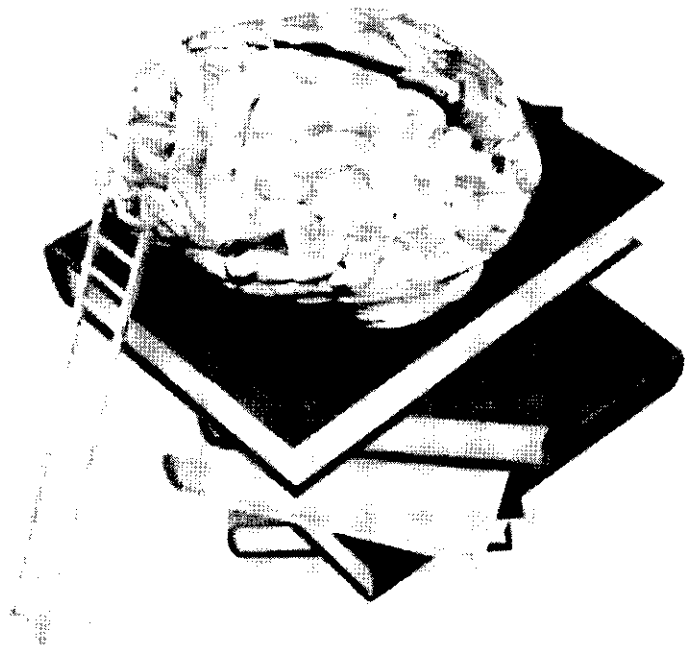
Première partie : parties théoriques est constituée par trois chapitres

Chapitre I : Présentation de la spiruline (*Arthrospira platensis*), Chapitre II : Flavonoïdes et tanins, Chapitre III : L'utilisation de la spiruline dans l'aspect nutritionnel et activités thérapeutiques.

Deuxième partie (partie expérimentale) : est constituée par deux chapitres : Chapitre I : présente les matériels et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail, Chapitre II : présente les résultats au cours de la présente étude et une discussion des résultats obtenus.

Et enfin, nous terminons ce modeste travail par une conclusion.

Première Partie :

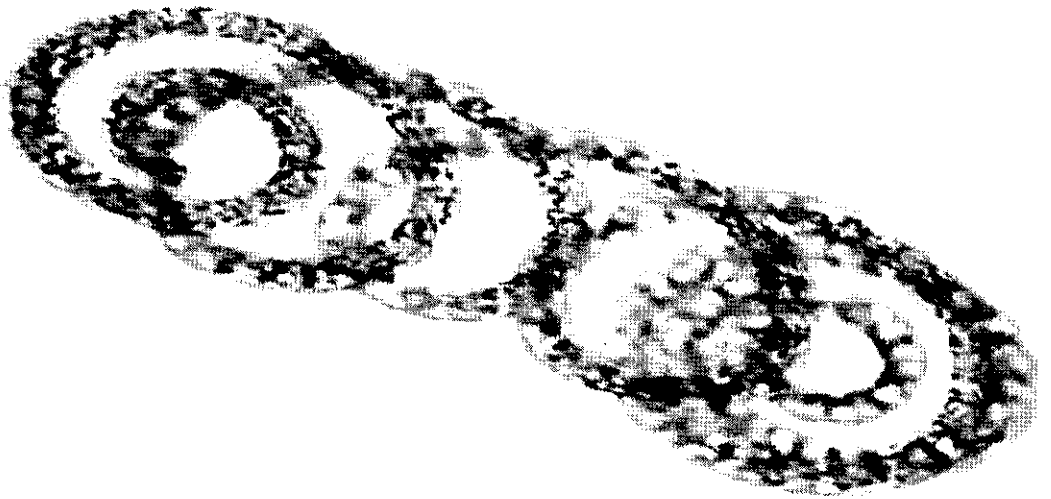


Synthèse Bibliographique

Chapitre I

Présentation de la spiruline

(Arthrospira platensis)



I-1. Généralités

Spiruline, ou ce qui était très probablement l'*Arthrospira*, a été redécouverte au milieu des années 1960 (**Vonshak, 1996**). Par des membres d'une expédition scientifique basée au Tchad (**Delpeuch et al., 1976**). Alors que *A. platensis* semble être une espèce plus largement distribuée, principalement en Afrique, mais aussi en Asie et en Amérique du Sud (**Vonshak, 1996**). *Arthrospira* pousse naturellement dans les lacs alcalins, mais est produite commercialement dans de grands bassins extérieurs ou en serre dans des conditions contrôlées (**Sotiroudis et Sotiroudis 2013**). 25 ans plus tard, *Arthrospira* a atteint une production annuelle totale dépassant 1000 tonnes par an avec une prévision de doubler son marché d'ici la fin de ce siècle (**Vonshak, 1996**).

Arthrospira platensis est considérée comme une microalgue par les botanistes en raison de la présence de chlorophylle, cependant selon les bactériologistes, c'est une bactérie en raison de sa structure procaryote (**Coxey et Jesus, 2004**). Les algues bleues, microalgues ou cyanobactéries, organismes du règne Monera, sont unicellulaires, procaryotes et autotrophes (**Vidotti et Rollemberg, 2004**). D'une longueur moyenne d'environ 250µm. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline » (**Geitler 1932**). Ils habitent divers environnements, tant qu'il y a de l'humidité, et agissent comme des « espèces pionnières » en raison de leurs faibles besoins nutritionnels, de leur capacité à effectuer la photosynthèse et à tirer parti de l'azote atmosphérique (**Vidotti et Rollemberg, 2004**). Bien qu'elle ait longtemps été utilisée comme aliment par la population d'Afrique et d'Asie, les scientifiques n'ont découvert les bienfaits de cette microalgue qu'à la fin du siècle dernier, lorsqu'elle a commencé à être utilisée comme complément nutritionnel car elle contient plusieurs substances bénéfiques. Pour les humains (**Bezzerra, 2006**).

I-2. Taxonomie

Faisant partie des cyanobactéries, les spirulines sont donc une des plus anciennes formes de vie « photosynthétique » apparue sur la terre il y a environ trois milliards et demi d'années. La spiruline est considérée souvent comme une algue planctonique microscopique. C'est en fait une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre *Arthrospira*, le plus souvent enroulée en spires d'où son nom commercial (**Girardin-Andréani, 2005**). La

terminologie de la spiruline est assez confuse, le tableau ci-dessous apporte des précisions sur les amalgames possibles (Tableau 1).

Tableau 1 : Les diverses appellations de la spiruline (Girardin-Andréani, 2005).

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

Le passage à la taxonomie phylogénétique est un processus lent. Ainsi, à l'heure actuelle, les taxonomistes travaillant sur *Arthrospira* se retrouvent à opérer avec deux systèmes de classification : l'approche traditionnelle, qu'a toujours une importance pratique, et l'approche moléculaire, qui permet la reconnaissance des clusters naturels (Vonshak, 1996). Le tableau ci-après synthétise la taxonomie d'*Arthrospira platensis* (Tableau2).

Tableau 2 : Taxonomie récapitulative (Fox, 1999; Wheeler et al, 2000; Boone et Castenholz, 2001).

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

I-3. Description morphologique

La variabilité morphologique de cette espèce a été étudiée pour la première fois par Rich (1931), à partir d'échantillons des lacs de la Rift Valley au Kenya : « largeur du trichome 6 à 11µm, longueur des cellules 2-10µm, séries de granules entre les cellules, parois entre les cellules, extrémité du trichome souvent légèrement atténuée ; largeur des spirales vers le milieu 36-60µm, entre spires 15-16µm, ce qui correspond à la description originale de *Arthrospira platensis* (Fox, 1999).

La spiruline est une cyanobactérie filamenteuse multicellulaire. Au microscope, la Spiruline apparaît sous forme de filaments bleu-vert composés de cellules cylindriques disposées en trichomes hélicoïdaux non ramifiés. Les filaments sont mobiles, glissant le long de leur axe. Les hétérocystes sont absents. La forme hélicoïdale du trichome est caractéristique du genre, mais les paramètres hélicoïdaux varient avec espèces, et même au sein d'une même espèce, des différences ont été observées dans ces paramètres (Marty et Busson, 1970; Rich, 1931). Le diamètre est 18µm à 20µm dans le premier et 16µm à 18µm dans ce dernier (Marty et Busson, 1970).

Microscopie électronique de coupes minces de *A. platensis* a montré que la paroi cellulaire était probablement constituée de quatre couches (Marty et Busson, 1970; Van Eykelenburg, 1979).

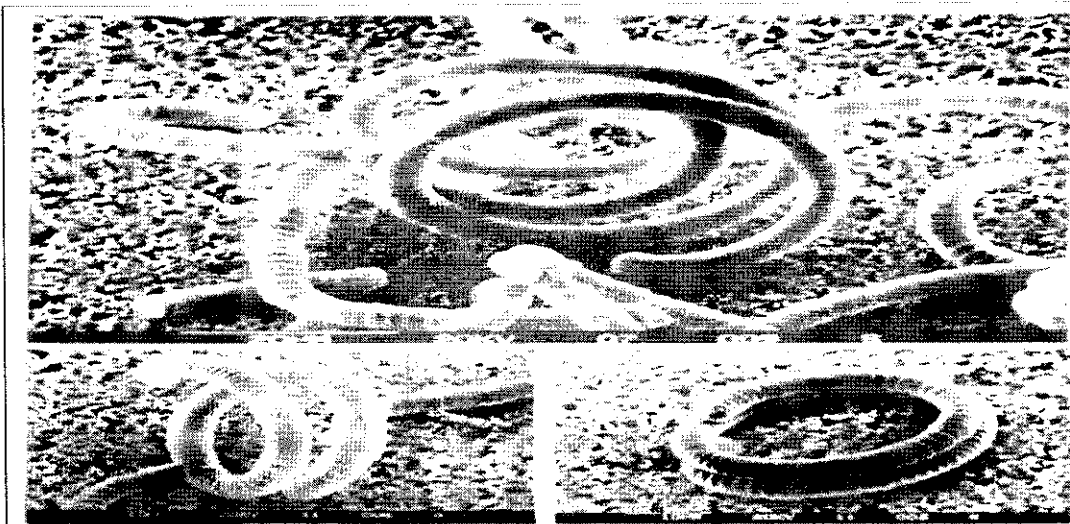
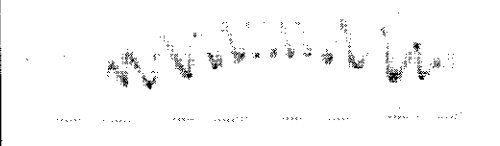
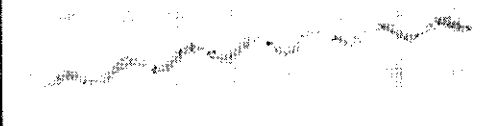
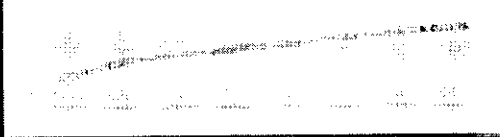


Figure 1 : Micrographie électronique du trichome d'*Arthrospira platensis* (Ciferri et Tiboni, 1985).

On distingue trois morphologies sont :

Tableau 3 : morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa, 2005).

Les spiralées : désigne les souches dont les filaments de la forme d’une queue de cochon.	
Les ondulées : désigne les souches dont les filaments en spirale étirée.	
Les droites : désigne les souches dont les filaments sont étirés.	

I-4. Cycle de vie

Ce cycle se résume en trois phases fondamentales : la fragmentation des trichomes, l'amplification cellulaire de l'hormogonie et les processus de maturation et d'élongation des trichomes. Les trichomes matures sont divisés en plusieurs petits filaments ou hormogonies par la formation préalable de cellules spécialisées qui perdent leur cytoplasme et se transforment en cellules de nécridie dans lesquelles le matériel cellulaire qui permet la fragmentation est réabsorbé. Le nombre de cellules dans les hormones est augmenté par fission binaire. Pour ce processus, le trichome se développe longitudinalement et donne à *A. platensis* une forme hélicoïdale (Ciferri et Tiboni, 1985).

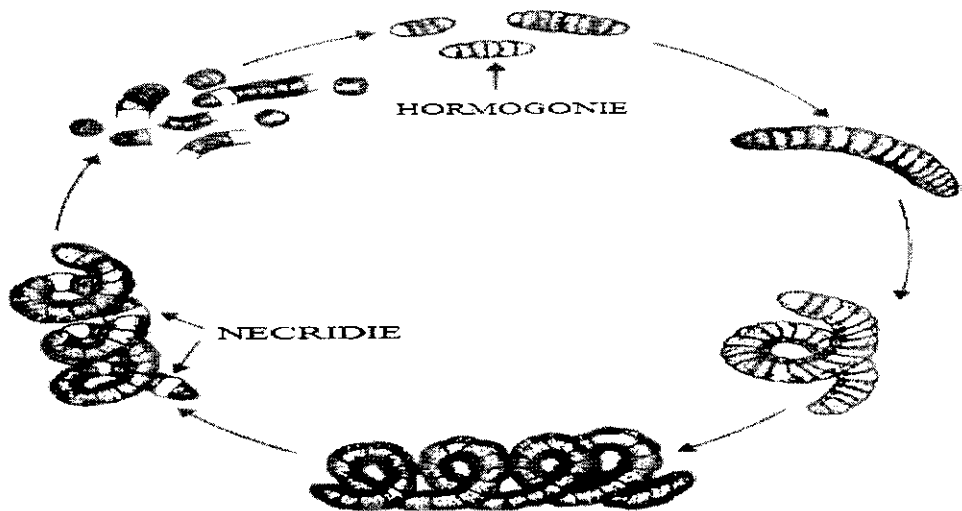


Figure 2 : Cycle de vie d'*Arthrospira platensis* (Ciferri, 1983).

I-5. Reproduction

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours (Dargent, 2009). Sa reproduction est végétative (asexuée) et s'effectue par scission simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard. Chez certaines espèces, des cellules spécialisées (akinètes) peuvent résister à la dessiccation puis "germer" lorsque les conditions redeviennent favorables (Falquet et Hurni, 2006).

I-6. Composition biochimique

La composition de la Spiruline dépend des éléments chimiques dont elle dispose dans le milieu. Il est possible de jouer sur les intrants et d’influer sur sa composition. La plupart des études des constituants de la *Spiruline* ont été réalisées sur *Arthrospira platensis* (Charpy et al., 2008).

Cette espèce sert de référence car sa composition est relativement constante même si elle varie selon la souche, les conditions de culture et le mode de conditionnement. (Charpy et al., 2008).

Le tableau (4) montre le profile nutritionnelle de poudre de *Arthrospira platensis*

Tableau 4 : profile nutritionnelle de *A.platensis* (par 100g), (Gutiérrez-Salmeán et al., 2015).

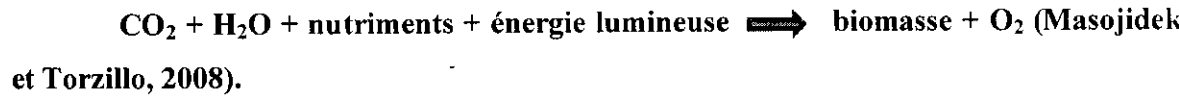
Macronutriments		Proline	2380
Calories	373	Serine	2760
Lipides (g)	4.3	Tyrosine	2500
Lipides saturés	1.95	Vitamines	352.000 IU
Lipides polyinsaturés	1.93	Vitamine A (comme β-carotène)	1090 mcg
Lipides mono insaturé	0.26	Vitamine K	0.5 mg
Cholestérol	< 0.1	Thiamine HCL (Vitamine B1)	4.53 mg
Carbohydrates (g)	17.8	Riboflavine (Vitamine B2)	14.9 mg
Fibres alimentaires	7.7	Niacine (Vitamine B3)	0.96 mg
Sucres	1.3	Vitamine B6 (Pyridox. HCL)	162 mcg
Lactose	< 0.1	Vitamine B12	
Protéine B	63	Minéraux	468 mg
Acides aminées essentiels (mg)		Calcium	87.4 mg
Histidine	1000	Fer	961 mg
Isoleucine	3500	Phosphores	142 mcg
Leucine	5380	Iodine	319 mg
		Magnesium	1.45 mg

Lysine	2960	Zinc	25.5 mcg
Méthionine	1170	Selenium	0.47 mg
Phénylalanine	2750	Cooper	3.26 mg
Thréonine	2860	Manganese	<400 mcg
Tryptophane	1090	Chromium	1,660 mg
Valine	3940	Potassium	641 mg
Acides aminés non essentiels		Sodium	
Alanine	4590	Phytonutrients	17.2%
Arginine	4310	Phycocyanin	1.2%
Acid Aspartique	5990	Chlorophyll	531,000 IU
Cystine	590	Superoxide dismutase (SOD)	1080 mg
Acide Glutamique	9130	Gamma linolenic acid (GLA)	504 mg
Glycine	3130	carotenoids	211 mg
		β-carotene	101 mg

I-7. Culture

Bien que plusieurs souches de microalgues soient cultivées dans le monde à des fins différentes, par exemple, comme aliments diététiques, additifs alimentaires ou comme source de composés bioactifs pour la pharmacologie, les cosmétiques ou les produits de diagnostic. l'essentiel de la production annuelle de biomasse est envoyé par seulement trois espèces la cyanobactérie *A.platensis* et les algues vertes *Chlorella* et *Dunaliella* (Masojidek et Torzillo, 2008).la principale culture commerciale à grande échelle de microalgues a commencé au début des années 1960 au Japon avec la culture de la Chlorella, suivie de la Spiruline au début des années 1970 au lac Texcoco, au Mexique. La troisième grande industrie des microalgues a été créée en Australie en 1986 (Borowitzka, 1998).

Les microalgues font partie des organismes photosynthétiques à la croissance la plus rapide puisque leur temps de doublement cellulaire peut être aussi court que quelques heures. La production de biomasse par les microalgues (organismes photosynthétiques oxygéniques) repose sue le schéma simple présenté ci-dessous, qui détermine toutes les exigences nécessaires à ce processus biologiques :



A.platensis prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe. Elle est maintenant cultivée dans de grandes usines aux U.S.A., en Inde, en Chine.

en Thaïlande, etc., car on lui découvre toujours plus de qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé (Chapitre III), tant pour les hommes que pour les animaux (**Jourdan, 1999**).

En biotechnologie, de manière générale, la production de biomasse nécessite des conditions bien définies. Les exigences de culture nécessaires à la croissance des cultures de masse de microalgues sont la lumière, une température et un apport suffisant de carbone et de nutriments dans le milieu de croissance. Etant donné que les cultures de masse de microalgues se développent dans des suspensions denses, une sorte de mélange turbulent est nécessaire pour exposer les cellules à la lumière et permettre un transfert et permettre un transfert de masse efficace (**Masojidek et Torzillo, 2008**).

I-7-1. Facteurs climatiques

I-7-1-1. Température

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C : température idéale pour pousser. Au-dessus, c'est trop chaud (43°C peut être mortel). En dessous, la vitesse de multiplication baisse avec la température. A 20°C la croissance est pratiquement stoppée. La température du milieu de culture doit donc se situer entre ces deux températures (**Jourdan, 1999**).

I-7-1-2. Lumière

La lumière est la source d'énergie primaire des organismes réalisant la photosynthèse. Pour les microalgues les durées et les périodes d'ensoleillement seront déterminantes. Les régions les plus ensoleillées seront les plus favorisées pour la culture de microalgues y compris la spiruline.

Une très forte lumière (plein soleil) peut être dangereuse dans les cas suivants :

- Une brusque illumination d'une culture froide (moins de 14°C à 15°C)
- Une culture très chaude, (réchauffement)
- Une culture très diluée (Secchi de plus de 6 cm)

On réduit volontairement la luminosité par ombrage si l'on désire freiner la croissance de la spiruline, ou si l'on se trouve dans l'un des trois cas précédents. (**Jourdan, 2006**).

I-7-1-3. Salinité

La spiruline peut être considérée comme une espèce à la fois halophile et très euryhaline, en milieu naturel les salinités tolérées vont de 8 PSU à 270 PSU (Beadle, 1943). Les limites de la salinité et d'alcalinité permises sont assez larges, 13 g/litre pour la salinité et une alcalinité de 0,1 molécule-gramme/litre (b = 0,1) (Jourdan 2006).

I-7-1-4. PH

Pour aboutir à une bonne croissance de la spiruline, le milieu de culture doit présenter un degré d'alcalinité situé entre 9 et11 (Khatun et al., 2019), selon (Sili et al., 2013) ph 9.5 est la valeur optimale pour la croissance de *Arthrospira*.

I-7.2 Production mondiale et régionale

Il est très difficile d'obtenir des renseignements permettant de connaître la production mondiale actuelle et les coûts de la Spiruline. Les chiffres donnés dans ce paragraphe ne le sont qu'à titre indicatif. Ils viennent pour la plupart d'une étude réalisée en 2000 par le bureau d'étude Tractebel Consult en association avec le Centre Universitaire de Biotechnologie Algale (CUBIA), Belgique (figure 5).

La production mondiale a régulièrement augmenté surtout depuis 1995. Elle serait aujourd'hui supérieure à 4000T. La Spiruline est commercialisée en poudre sèche à l'état « brut » ou bien intégrée dans les produits finis. Dans le premier cas, elle est généralement vendue sous forme de gélules ou de comprimés, dans le deuxième cas elle est directement intégrée dans les aliments (agroalimentaire) et dans les crèmes (cosmétique). (Charpy et al., 2008).

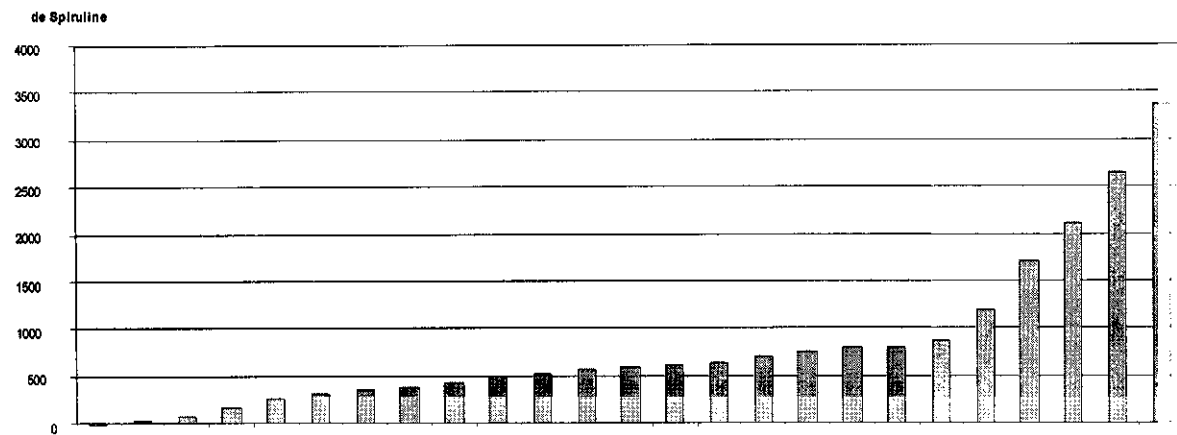


Figure 3 : Evolution de la production mondiale de Spiruline d'après l'étude réalisée en 2000 par Tractebel Consult en association avec le Centre Universitaire de Biotechnologie Algale (CUBIA) (Pulz et Gross, 2004).

L'Algérie fait partie des rares pays dans le monde où on cultive de la spiruline, En Algérie, on est au stade de la production artisanale et expérimentale. L'unique Algérien qui connaît parfaitement le processus de production de cette espèce d'algue s'appelle Hiri Abdelkader. Il a réussi à la faire déplacer de son environnement naturel (El Guelta) vers un bassin. Il dispose d'un bassin d'une superficie légèrement au-dessus de 20 m² et produit 20 kg de spiruline sèche par an. C'est dans la région de Tamanrasset que cela se passe. Quatre mois après l'ensemencement du bassin, on peut déjà récolter la spiruline. Le kilogramme de spiruline est vendu sur le marché mondial à 560 euros (M'hamed,2010).

Chapitre II

Flavonoïdes et tanins

II.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes (Lutge et al., 2002).

II.2. Présentation générale sur les polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Mompon et al., 1996 ; He et al., 2008). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Richter et al., 1993), contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Druzyńska et al., 2007). L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Fig. 1), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (Bruneton, 1999 ; Balasundram et al., 2006).

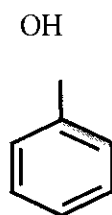


Figure 4 : Structure de noyau phénol (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques, la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate, qui consiste en la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière (Guignard J, 2000 ; Bruneton, 2008).

Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans la physiologie de la plante (lignification, interactions symbiotiques...), dans les mécanismes de défenses de la plante (interactions biotiques et abiotiques) ou en corduans la coloration des fleurs. Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l’homme vis-à-vis de certaines maladies par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Michel, 2011).

La classification de ces substances a été proposée par (Harborne, 1980). On peut distinguer les différentes classes des polyphénols (Macheix et al., 2006) sont divisés en deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Clifford, 1999 ; D’Archivio et al., 2007), ces classes basant d’une part, sur le nombre d’atomes constitutifs et d’autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues (Macheix et al., 2006), le tableau 12 présente les différentes classes des composés phénoliques.

Tableau 5 : Classification des composés phénoliques (Vermerris et Nicholson, 2007).

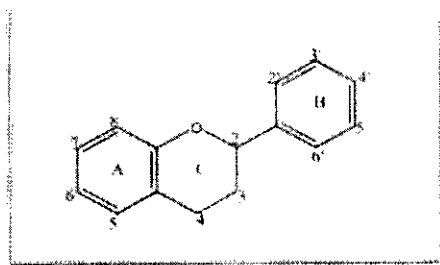
C6	Phénol simple
C6-C1	Acide phénolique et composante liée
C6-C2	Acetophenone et acide phenylacetique
C6-C3	Acide cinnamique, aldéhyde cinnamyle et alcool cinnamyle
C6-C2	Coumarine, isocoumarine et chromone
C15	Chalcones, aurones, dihydrochalcones
C15	Flavanes
C15	Flavones
C15	Flavnonoes
C15	Flavonoles
C15	Anthocyanidines
C15	Anthocyanines
C30	Biflavonyls
C6-C1-C6, C6-C2-C6	Benzophenones, xanthones, stilbenes
C18	Quinones
Lignans, neolignans	Betacyanines
Lignin	Dimers ou oligomers
Tannins	Oligomers ou polymers
Phlobaphenes	Polymers

Dans cette étude, nous aborderons deux types de polyphénols : Les Flavonoïdes (polyphénols simples), et les tanins (polyphénols complexes).

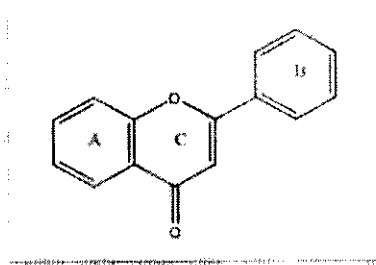
II.2.1. Flavonoïdes

Le nom flavonoïdes provient du terme *flavedo*, désignant la couche externe des écorces d'orange (**Bruneton, 2009**), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïdes a été plutôt prêté du *flavus* ; (*flavus*=jaune) (**Karaali et al., 2004; Malesev et Kuntie, 2007**).

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). Ce sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromons portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides (**Marfak, 2003**).



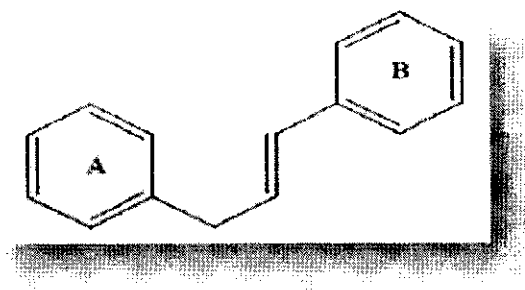
a



b

II.2.1.1. Structure chimique

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1- benzopyrane) (Figure 10) (**Bruneton, 1999**).



c

Figure 5 : a) Noyau flavane; b) Noyau flavone; c) Squelette de base des flavonoïdes.

II.2.1.2. Classification

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel le cycle B est attaché et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C (Fig.9). Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dans lesquels le cycle B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C. Ces sous-groupes sont : les flavones, les flavonols, les flavanoties, les flavanonols, les flavanols ou catéchines, les anthocyanes et les chalcones (Fig.9) (Panche et al., 2016).

II.2.1.2.1. Flavones

Les flavones sont l'un des sous-groupes importants des flavonoïdes. Les flavones sont largement présentes dans les feuilles, les fleurs et les fruits sous forme de glucosides. Le céleri, le persil, les poivrons rouges, la camomille, la menthe et le ginkgo biloba sont parmi les principales sources de flavones. La lutéoline, l'apigénine et les mandarines appartiennent à cette sous-classe de flavonoïdes (Fig. 10). Les écorces d'agrumes sont riches en flavones polyméthoxylées, tagéretine, nobilétine et sinesétine (Manach et al., 2004). Ils ont une double liaison entre les positions 2 et 3 et une cétone en position 4 du cycle C. La plupart des flavones des légumes et des fruits ont un groupe hydroxyle en position 5 du cycle A, tandis que l'hydroxylation en d'autres positions, pour la plupart en position 7 du cycle A ou 3 et 4' du cycle B, peut varier selon la classification taxonomique du légume ou du fruit particulier (Panche et al., 2016).

II.2.1.2.2. Flavonols

Les flavonols sont des flavonoïdes avec un groupe cétone. Ce sont des éléments constitutifs des proanthocyanes. Les flavonols sont présents en abondance dans une variété de fruits et légumes. Les flavonols les plus étudiés sont le kaempférol, la quercétine, la myricétine et la fisétine (Fig. 10). Oignons, chou frisé, laitue, tomates, pommes, raisins et baies sont de riches sources d'flavonols. Outre les fruits et légumes, le thé est également des sources d'of flavonols. L'apport d'of flavonols s'avère être associé à un large éventail d'avantages pour la santé, notamment un potentiel antioxydant et un risque réduit de maladie vasculaire.

Par rapport aux flavones, les flavonols ont un groupe hydroxyle dans position 3 du cycle C, qui peut également être glycosylé. Aimer les flavones, les flavonols sont également très divers dans les schémas de méthylation et d'hydroxylation et, compte tenu des différents schémas de glycosylation, ils constituent peut-être le sous-groupe de flavonoïdes le plus courant et le plus important dans les fruits et légumes. Par exemple, la quercétine est présente dans de nombreux aliments végétaux (Iwashina, 2013).

II.2.1.2.3. Flavanones

Les flavanones sont une autre classe importante qui est généralement présente dans tous les agrumes tels que les oranges, les citrons et les raisins. L'hespéritine, la naringénine et l'ériodictyol sont des exemples de cette classe de flavonoïdes (Fig. 10). Les flavanones sont associées à un certain nombre d'avantages pour la santé en raison de leurs propriétés anti-radicaux libres. Ces composés sont responsables du goût amer du jus et de l'écorce des agrumes. Les flavonoïdes d'agrumes exercent des effets pharmacologiques intéressants en tant qu'agents antioxydants, anti-inflammatoires, hypolipémiants sanguins et hypocholestérolémiants. Les flavanones, également appelées dihydroflavones, ont le cycle C saturé ; par conséquent, contrairement aux flavones, la double liaison entre les positions 2 et 3 est saturée et c'est la seule différence structurelle entre les deux sous-groupes de flavonoïdes. Au cours des 15 dernières années, le nombre de flavanones a considérablement augmenté (Iwashina, 2013).

II.2.1.2.4. Isoflavonoïdes

Les soflavonoïdes sont un sous-groupe de flavonoïdes important et très distinctif. Les isoflavonoïdes ne bénéficient que d'une distribution limitée dans le règne végétal et se trouvent principalement dans le soja et d'autres plantes légumineuses. Certains isoflavonoïdes ont également été signalés comme étant présents dans les microbes (Matthies et al., 2008). On a également constaté qu'ils jouent un rôle important en tant que précurseurs du développement des phytoalexines lors des interactions microbiennes végétales (Aoki et al., 2000; Dixon et Ferreira, 2002). Les isoflavonoïdes présentent un potentiel énorme pour lutter contre un certain nombre de maladies. Les isoflavones telles que la génistéine et la daidzéine sont communément considérées comme des phyto-œstrogènes en raison de l'activité iro-œstrogénique dans certains modèles animaux (Fig. 10).

Szkudelska et Nogowski ont examiné l'effet de la génistéine induisant des changements hormonaux et métaboliques, en vertu desquels elle peut influencer diverses voies pathologiques (Szkudelska et Nogowski, 2007).

II.2.1.2.5. Néoflavonoïdes

Les néoflavonoïdes sont une classe de composés polyphénoliques. Alors que les flavonoïdes ont un squelette 2-phénylchromène-4-one, les néoflavonoïdes ont un squelette 4-phénylchromène sans substitution de groupe hydroxyle en position 2. La première néoflavone isolée à partir de sources naturelles en 1951 était le calophyllolide de graines de *Calophyllum inophyllum*. On le trouve également dans l'écorce et le bois de la plante endémique sri-lankaise *Mesua thwaitesii* (Linuma et al., 1987; Garazd et al., 2003).

II.2.1.2.6. Flavanols, flavan-3-ols ou catéchines

Les flavanonols, également appelés dihydroflavonols ou catéchines, sont les dérivés 3-hydroxy des flavanones. Il s'agit d'un sous-groupe très diversifié et multisubstitué. Les flavanols sont également appelés flavan-3-ols car le groupe hydroxyle est toujours lié à la position 3 du cycle C. Contrairement à de nombreux flavonoïdes, il n'y a pas de double liaison entre les positions 2 et 3. Les flavanols se trouvent en abondance dans les bananes, les pommes, les myrtilles, les pêches et les poires (Fig. 10) (Panche et al., 2016).

II.2.1.2.7. Anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments responsables des couleurs des plantes, des fleurs et des fruits. La cyanidine, la delphinidine, la malvidine, la pélargonidine et la péonidine sont les anthocyanes les plus étudiées (Fig. 10). Ils se produisent principalement dans les couches cellulaires externes de divers fruits tels que les canneberges, les cassis, les raisins rouges, les raisins merlot, les framboises, les fraises, les myrtilles, les myrtilles et les mûres. La stabilité associée aux avantages pour la santé de ces composés facilite leur utilisation dans l'industrie alimentaire dans une variété d'applications (Giusti et Wrolstad, 2003). La couleur de l'anthocyane dépend du pH et également de la méthylation ou de l'acylation au niveau des groupes hydroxyle sur les anneaux A et B (Iwashina, 2013).

II.2.1.2.8. Chalcones

Les chalcones sont une sous-classe des flavonoïdes. Ils sont caractérisés par l'absence de « cycle C » de la structure du squelette de base des flavonoïdes illustrée à la Fig. 8. Par conséquent, ils peuvent également être appelés flavonoïdes à chaîne ouverte. Les principaux exemples de chalcones comprennent la phloridzine, l'arbutine, la phlorétine et la chalconaringénine. Les chalcones sont présentes en quantités importantes dans les tomates, les poires, les fraises, les busseroles et certains produits à base de blé. Les chalcones et leurs dérivés ont suscité une attention considérable en raison de leurs nombreux avantages nutritionnels et biologiques (**Panche et al., 2016**).

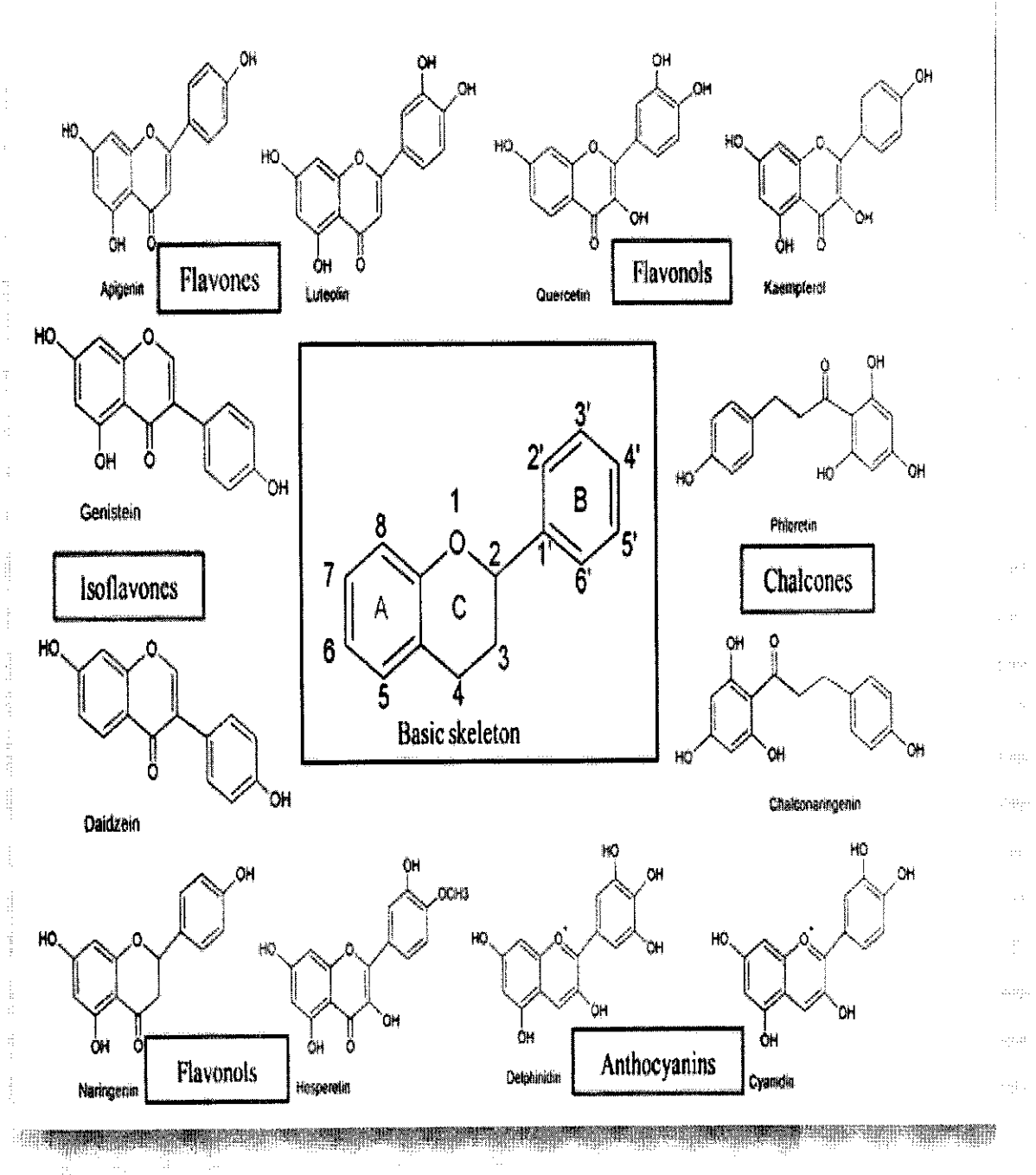
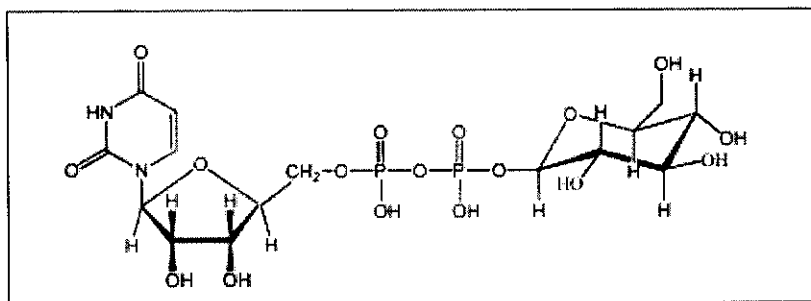


Figure 6 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et leurs classes (Panche et al., 2016).

1.2.1.3. Substitutions des flavonoïdes

1.2.1.3.1. Glycosylation

Par définition, c'est l'addition d'un sucre sur le squelette flavonique. Elle se fait dans la dernière phase de la biosynthèse des flavonoïdes grâce à l'enzyme O-glycosyltransférase, cette enzyme transfère le sucre de la UDP glucose (Uridine diphosphate glucose) au groupe hydroxyle aglycone, par exemple : l'anthocyanidine avec un libre groupe hydroxyle à la position 3 est instable aux conditions physiologiques par conséquent il ne se trouve pas dans la nature sur cette forme (Forkman et Heller, 1999). La 3-Oglycosyl- transférase est considérée comme une enzyme indispensable dans la biosynthèse des anthocyanidines.



Uridine diphosphate glucose

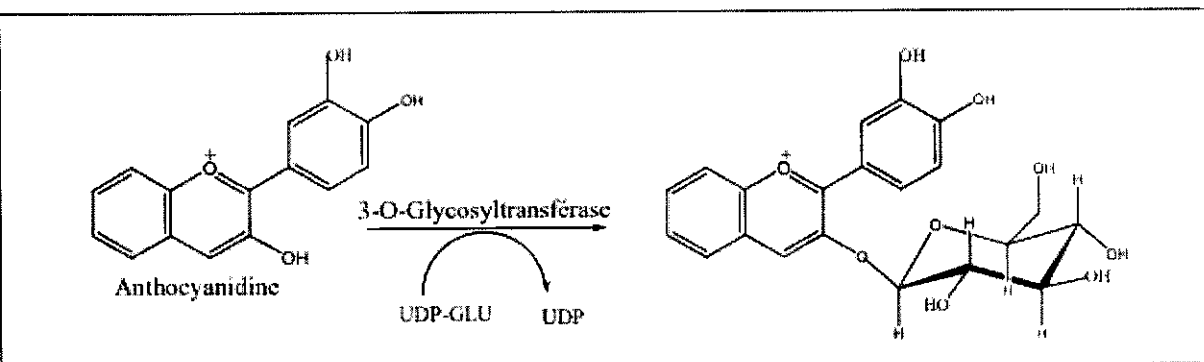


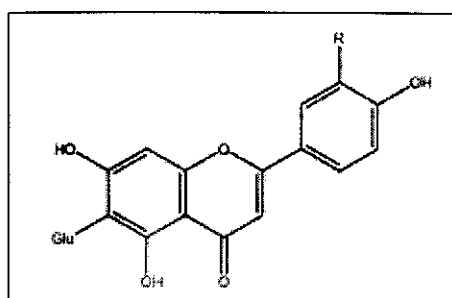
Figure 8 : Substitution d'un sucre sur l'aglycone (Forkman et Heller, 1999).

On distingue deux types de glycosylation :

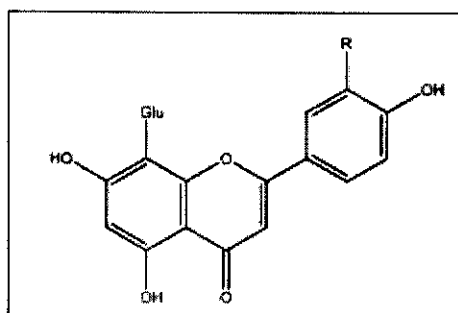
- ❖ La C- glycosylation
- ❖ La O- glycosylation

II.2.1.3.1.1 C- glycosylation

Dans ce type de composés, le sucre est lié directement au cycle benzénique par une liaison C-C, d'une manière générale la C-glycosylation se fait en C6 ou C8, par exemple l'isovitexine (6-C-glycosyleflavone) et la vitexine (8-C-glycosyleflavone) (Markham, 1982).



Isovitexine

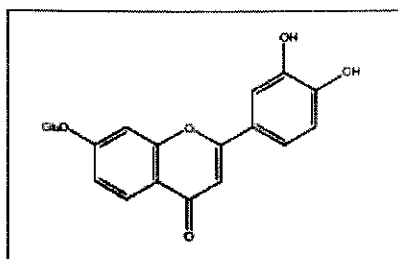


Vitexine

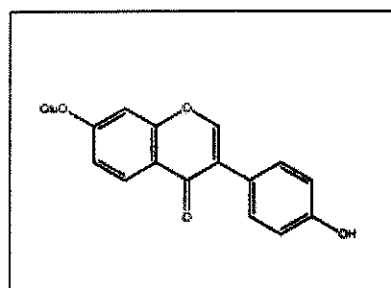
II.2.1.3.1.2. O- glycosylation

Dans ce composés, hydroxyle du squelette flavonique est lié avec un autre hydroxyle alcoolique de sucre (glucose...) en présence de l'enzyme glycosyltransférase et la UDP-glu (Uridine diphosphate glucose) comme donneur du sucre.

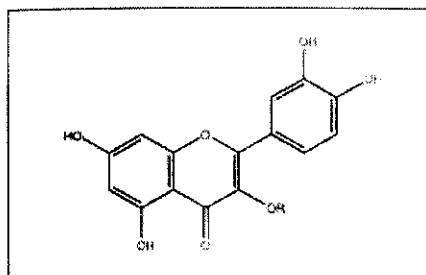
Les structures suivantes montrent plusieurs positionnements de la O-glycosylation en 7-OH et 3-OH (Kazuno et al., 2005).



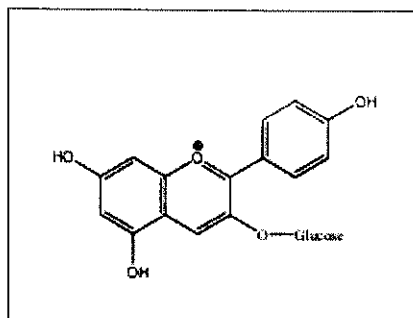
O-glycosyl-flavone



O-glycosyl-isoflavone



O-glycosyl-flavonol



3-O-glycosyl-Pelargonidole

R= glucose Isoquercitrine

R= galactose Hyperoside

R= rutinose Rutine

II.2.1.4. Biosynthèse

De nos jours, plus de 6000 flavonoïdes ont été identifiés et isolés à partir des milliers des espèces végétales (**Erlund, 2004**). Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités (A et B), reliés par une chaîne en C3 (**Bruneton, 1999**).

Leur biosynthèse (figure 12) se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6-tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérase, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette dernière qu'agit ensuite la flavonesynthase ou la (2S)-flavanone-3hydroxylase pour donner la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R,3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-3.

Le dihydroflavonol, en présence de la flavonolsynthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7) (figure 12). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées.

Le pélagonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélagonidol-3-glucoside (figure 12). Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements

hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et chaîne en C3 intermédiaire.

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous formes de glycoside. Une ou plusieurs De leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que les sucre est appelé aglycone.

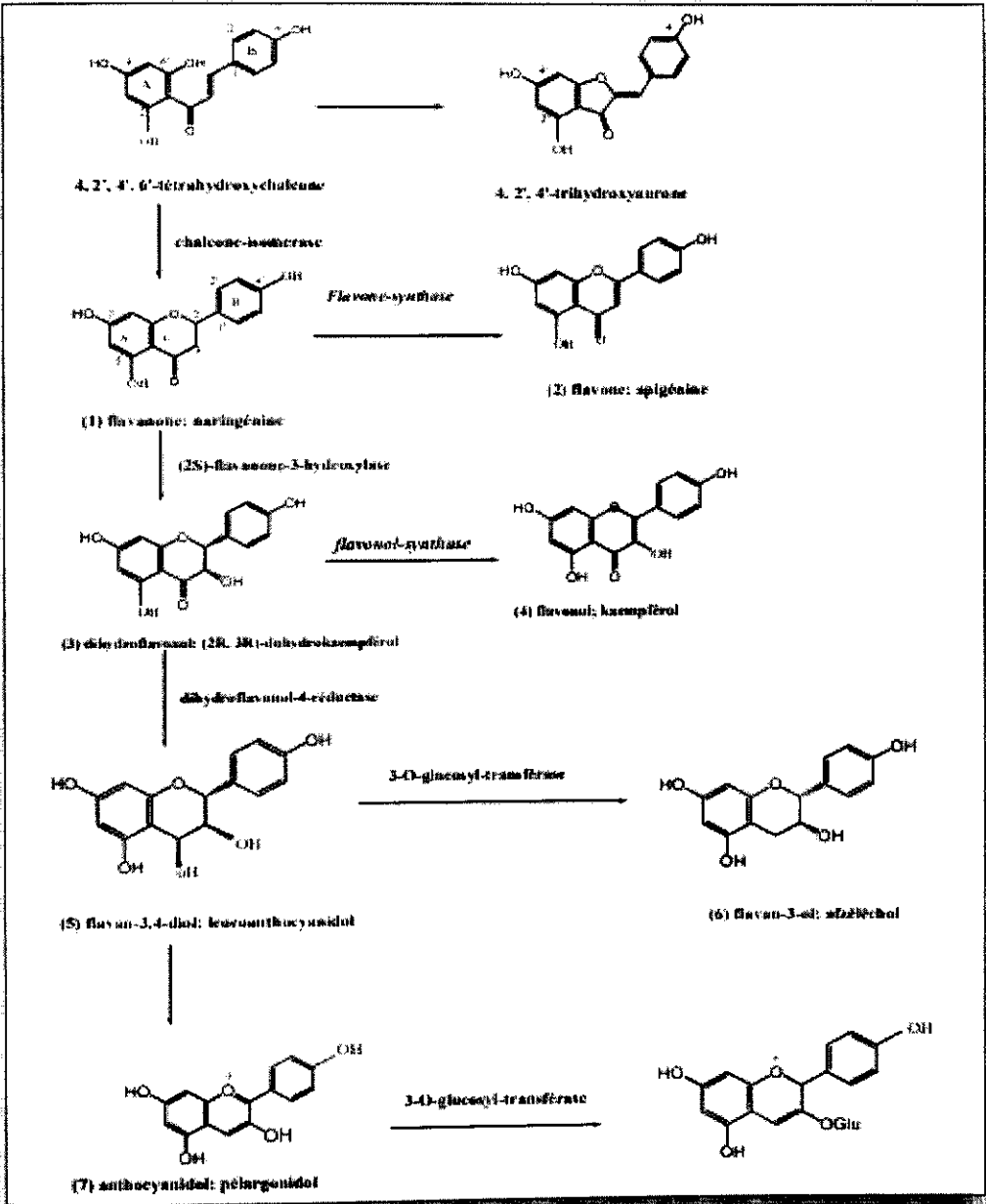


Figure 9 : La biosynthèse des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

II.2.1.5. Activités biologiques des flavonoïdes

II.2.1.5.1. Activité anti- oxydant

Flavonoïdes possèdent de nombreuses propriétés biochimiques, mais la propriété mieux décrite de presque tous les groupes de flavonoïdes est leur capacité d'agir comme antioxydants. L'activité antioxydante des flavonoïdes dépend de la disposition des groupes fonctionnels sur la structure nucléaire. La configuration, la substitution, et le nombre total de groupes hydroxyle influencent sensiblement différents mécanismes de l'activité anti-oxydant tel que le piégeur de radicaux et la capacité de chélation métallique d'ions (**Kelly et al., 2002; Pandey et al., 2012**). La ration cycle B hydroxyle configure est le plus déterminant significatif de balayage de - ROS et RNS, car il fait don de l'hydrogène et un électron à un groupe hydroxyle, peroxy, et les radicaux peroxy-nitrite, les stabiliser et donnant lieu à une flavonoïdes relativement stables radicaux (**Cao et al., 1997**).

Mécanismes l'action anti-oxydant peut comprennent- (1) de pression SUP- formation de ROS, soit par inhibition des enzymes ou par des oligo-éléments chélatants impliqués dans la génération de radicaux libres ; (2) balayage des ROS ; et (3) régulation à la hausse ou protection des défenses antioxydantes (**Halliwell et Gutteridge., 1998; Mishra et al., 2013**). L'action des flavonoïdes implique la plupart des mécanismes mentionnés ci-dessus. Certains des effets induits par eux peuvent être le résultat combiné de l'activité de piégeage des radicaux et l'interaction avec l'enzyme fonctions. Les flavonoïdes inhibent les enzymes impliquées dans la production de ROS, qui microsomale monooxygénase, la glutathion S-transférase, succinoxidase mitochondrial NADH oxydase, etc (**Brown et al., 1998**).

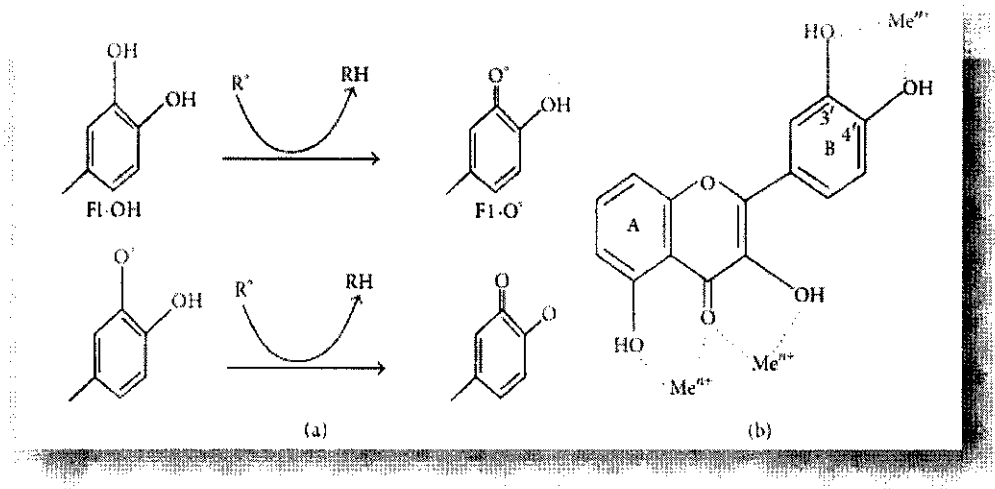


Figure 10 : (a) piégeage des ROS (R') par les Flavonoïdes (Fl-OH) et (b) sites de liaison pour les métaux traces où Me^{n+} indique les ions métalliques (Kumar et Pandey, 2013).

II.2.1.5.2. Activité anti- inflammatoire

L'inflammation est un processus biologique normal en réponse à une lésion tissulaire, une infection par un pathogène microbien et une irritation chimique. L'inflammation est initiée par la migration des cellules immunitaires des vaisseaux sanguins et la libération de médiateurs sur le site de la lésion. Ce processus est suivi par le recrutement de cellules inflammatoires, la libération de ROS, de RNS et de cytokines pro-inflammatoires pour éliminer les agents pathogènes étrangers et la réparation des tissus lésés. En général, l'inflammation normale est rapide et spontanément résolutive, mais une résolution aberrante et une inflammation prolongée provoquent divers troubles chroniques (Pan et al., 2010).

Le système immunitaire peut être modifié par l'alimentation, les agents pharmacologiques, les polluants environnementaux et les produits chimiques alimentaires naturels. Certains membres des flavonoïdes affectent de manière significative la fonction du système immunitaire et des cellules inflammatoires (Middleton et Kandaswami, 1992). Un certain nombre de flavonoïdes tels que l'héspéridine, l'apigénine, la lutéoline et la quercétine possèdent des effets anti-inflammatoires et analgésiques. Les flavonoïdes peuvent affecter spécifiquement la fonction des systèmes enzymatiques impliqués de manière critique dans la génération des processus inflammatoires, en particulier les protéines kinases tyrosine et sérine-thréonine (Nishizuka, 1988; Hunter, 1995). L'inhibition des kinases est due à la

liaison compétitive des flavonoïdes avec l'ATP sur les sites catalytiques des enzymes. Ces enzymes sont impliquées dans les processus de transduction du signal et d'activation cellulaire impliquant les cellules du système immunitaire. Il a été rapporté que les flavonoïdes sont capables d'inhiber l'expression des isoformes de l'oxyde nitrique synthase inductible, de la cyclooxygénase et de la lipooxygénase, qui sont responsables de la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique, de prostanoïdes, de leucotriènes et d'autres médiateurs de la pro-inflammatoire. Tels que les cytokines, les chimiokines ou les molécules d'adhésion (**Tunon et al., 2009**). Les flavonoïdes inhibent également les phosphodiesterases impliquées dans l'activation cellulaire. Une grande partie de l'effet anti-inflammatoire des flavonoïdes est sur la biosynthèse des cytokines protéiques qui interviennent dans l'adhésion des leucocytes circulants aux sites de blessure. Certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la production de prostaglandines, un groupe de puissantes molécules de signalisation pro-inflammatoires (**Manthey, 2000**).

L'inversion des changements inflammatoires induits par le carraghénane a été observée avec le traitement à la silymarine. Il a été constaté que la quercétine inhibe la sécrétion d'immunoglobuline stimulée par les mitogènes des isotypes IgG, IgM et IgA in vitro (**Cumella et al., 1987**). Plusieurs flavonoïdes inhibent significativement l'adhésion, l'agrégation et la sécrétion plaquettaires à une concentration de 1 à 10 mM (**Beretz et Cazenave, 1988**). L'effet des flavonoïdes sur les plaquettes a été lié à l'inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique par le monoxyde de carbone (**Corvazier et Maclouf, 1985**). Alternativement, certains flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'AMP cyclique phosphodiesterase, ce qui peut expliquer en partie leur capacité à inhiber la fonction plaquettaire (**Kumar et Pandey, 2013**).

II.2.1.5.3. Activité anti- viral

Les composés naturels sont une source importante pour la découverte et le développement de nouveaux médicaments antiviraux en raison de leur disponibilité et des faibles effets secondaires attendus. Les flavonoïdes naturels ayant une activité antivirale ont été reconnus depuis les années 1940 et de nombreux rapports sur l'activité antivirale de divers flavonoïdes sont disponibles. La recherche d'un médicament efficace contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un besoin d'heure. La plupart des travaux liés aux composés antiviraux tournent autour de l'inhibition de diverses enzymes associées au cycle de vie des virus. Une relation structure-fonction entre les flavonoïdes et leur activité inhibitrice

enzymatique a été observée. Gerdin et Srenso (**Gerdin et Srenso, 1983**) ont démontré que le flavan-3-ol était plus efficace que les flavones et les flavonones dans l'inhibition sélective du VIH-1, du VIH2 et d'infections par le virus de l'immunodéficience similaire. La baicaline, un flavonoïde isolé de *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae), inhibe l'infection et la réplication du VIH-1. Il a également été démontré que la baicaléine et d'autres flavonoïdes tels que la robustaflavone et l'hinokiflavone inhibent la transcriptase inverse du VIH-1 (**Cushnie et Lamb, 2005**).

II.2.1.5.4. Activité antibactérienne

Les flavonoïdes sont connus pour être synthétisés par les plantes en réponse à une infection microbienne ; il ne devrait donc pas être surprenant qu'ils se soient révélés *in vitro* être des substances antimicrobiennes efficaces contre un large éventail de micro-organismes. Il a été rapporté que des extraits de plantes riches en flavonoïdes de différentes espèces possèdent une activité antibactérienne (**Mishra et al., 2013; Mishra et al., 2013; Mishra et al., 2011; Pandey et al., 2010**). Il a été démontré que plusieurs flavonoïdes, dont l'apigénine, la galangine, les glycosides de flavone et de flavonol, les isoflavones, les flavanones et les chalcones, possèdent une puissante activité antibactérienne (**Cushnie et Lamb, 2009**).

Les flavonoïdes antibactériens pourraient avoir plusieurs cibles cellulaires, plutôt qu'un site d'action spécifique. L'une de leurs actions moléculaires est de former des complexes avec des protéines par le biais de forces non spécifiques telles que la liaison hydrogène et les effets hydrophobes, ainsi que par la formation de liaisons covalentes. Ainsi, leur mode d'action antimicrobienne peut être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire, etc. Les flavonoïdes lipophiles peuvent également perturber les membranes microbiennes (**Cowan, 1999; Mishra et al., 2009**).

II.2.2. Tanins

Le terme « tannin » ou « tanin » vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuire (**Khanbabae et Ree, 2001**).

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Da). Leur structure chimique leur confère une capacité très développée de se fixer sur des molécules telles que les alcaloïdes, la gélatine, les

polysaccharides, et essentiellement les protéines (Cowan, 1999). Ils sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les *Fagacée*, les *Rosacée* (Ghesterm et al., 2001). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (Khanbabae et Ree, 2001). En général, ils sont subdivisés en deux groupes distincts en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule (Rira, 2006).

II.2.2.1 Classification

II.2.2.1.1 Tanins condensés) flavan-3-ols)

Les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (Guigniard, 1996).

✓ Structure

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (Figure 14). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées). (Bessas et al, 2007).

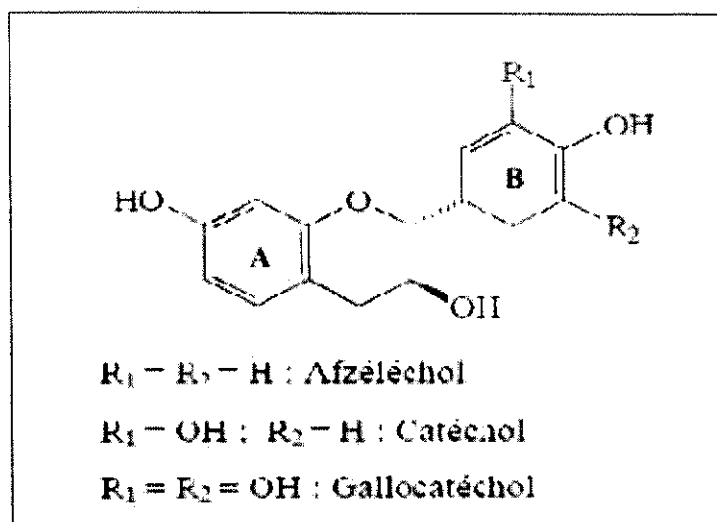


Figure 11 : Structure de quelques tanins (Bessas et al, 2007).

II.2.2.1.2 Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des Dicotylédones. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (Guigniard, 1996).

✓ Structure

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbonées à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques (Bessas et al, 2007).

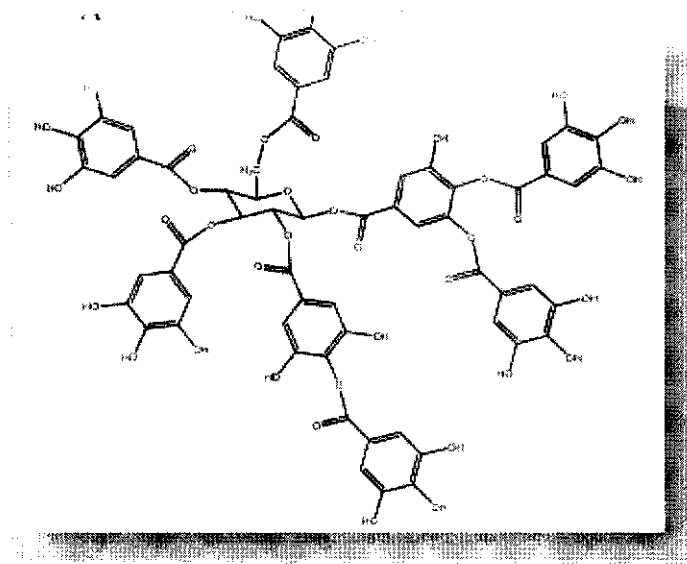


Figure 12 : Structure chimique de tanins hydrolysables, galliques (Watrelet et Norton, 2020).

II.2.2.2 Activité biologique des tanins

Les effets antinutritionnels et défavorables des tanins sur la digestibilité des protéines alimentaires sont expliqués par l'aptitude de ces molécules à se combiner avec les protéines alimentaires, les rendant inattaquables par les enzymes protéolytiques. En outre, les tanins peuvent inactiver directement les enzymes digestives. En réagissant avec les groupements aminés des lysines, les tanins diminuent, ainsi, la disponibilité de cet aminoacyle essentiel.

Le goût astringent du thé s'explique par la précipitation des protéines salivaires par les tanins qui provoquent aussi une hyposialorrhée (sensation de bouche sèche) liée à une constriction des canaux salivaires. D'un autre côté l'inhibition des enzymes présents dans le tube digestif des animaux peut être considérée au niveau des plantes comme un moyen dissuasif contre les herbivores.

Si les végétaux riches en tanins peuvent être dangereux, on peut inversement les utiliser comme antidote dans les intoxications par les plantes à alcaloïdes. Ils ont, en effet, la propriété de précipiter certains d'entre eux (Brillouet et al., 2013).

✓ **Autres effets :** Les tanins peuvent être utilisés en médecine dans des composés antidiarrhéiques, hémostatiques et antihémorroïdaires. Les effets anti-inflammatoires des tanins aident à contrôler toutes les indications de gastrite, d'œsophagite, d'entérite et de

troubles intestinaux irritants. La diarrhée est également traitée avec un médicament astringent efficace qui n'arrête pas l'écoulement de la substance perturbatrice dans l'estomac ; il contrôle plutôt l'irritation de l'intestin grêle (**Cheng et al., 2000**). Non seulement les tanins guérissent les brûlures et arrêtent les saignements, mais ils arrêtent également l'infection tout en continuant à guérir la plaie à l'intérieur. La capacité des tanins à former une couche protectrice sur les tissus exposés empêche la plaie d'être encore plus infectée. Les tanins sont également bénéfiques lorsqu'ils sont appliqués sur la muqueuse de la bouche (**Stéphane., 2004**). Les tanins peuvent également être efficaces pour protéger les reins. Les tanins ont été utilisés pour le soulagement immédiat des maux de gorge, de la diarrhée, de la dysenterie, des hémorragies, de la fatigue, des ulcères de la peau. Les tanins peuvent provoquer une régression des tumeurs déjà présentes dans les tissus, mais s'ils sont utilisés de manière excessive au fil du temps, ils peuvent provoquer des tumeurs dans les tissus sains. Ils ont également été signalés comme ayant des anti-viraux (**Lin et al., 2004**) effets antibactériens (**Akiyama et al., 2001; Funatogawa et al., 2004**) et antiparasitaires (**Kolodziej et Kiderlen, 2005**).

Chapitre III

**L'utilisation de la spiruline dans
l'aspect nutritionnel et activités
thérapeutiques**



I. Généralités sur l'utilisation de la Spiruline

La croissance démographique, l'épuisement des ressources alimentaires et l'équilibre alimentaire nécessitent l'utilisation de nouvelles sources alimentaires. Depuis de nombreuses années, il existe des antibiotiques, des hormones ou des médicaments utilisés pour améliorer la santé et l'immunité, et pour lutter contre les maladies. Aujourd'hui, la résistance aux antibiotiques est devenue une réalité et l'utilisation d'une approche plus naturelle des additifs chez les humains et les animaux est devenue une alternative plus acceptable. Les additifs naturels utilisent une source de protéines pour remplacer l'utilisation d'antibiotiques, d'hormones et de médicaments. Les additifs naturels sont contenus dans une grande famille scientifique, mais la plupart proviennent de dérivés et d'extraits de plantes. L'état nutritionnel de ces suppléments est important pour une utilisation en tant qu'additif alimentaire. Parmi ces additifs, les microalgues sont présentes à travers l'histoire. L'utilisation de ces algues comme source de protéines est observée par les chercheurs depuis de nombreuses années. Il existe plusieurs types de microalgues, mais surtout la spiruline, à savoir *S. platensis*, a été étudiée plus que d'autres en raison de ses composants riches, de ses effets positifs et de son caractère non toxique (Seyidoglu et al., 2017).

Les micro-algues du groupe des spirulines sont connus pour élaborer toute une gamme de produits intéressants (via la photosynthèse) à intérêt pharmaceutique, cosmétique et plus particulièrement alimentaire (Hacène et al., 2001), cela est dû à sa riche composition chimique que nous avons examinée en détail dans le premier chapitre.

Tandis que l'intérêt suscité par d'autres micro-organismes s'estompe quelque peu devant des problèmes comme leur digestibilité ou leur teneur en acides nucléiques, la spiruline semble actuellement l'une des meilleures solutions pour la production simple d'un complément alimentaire de haute qualité (Falquet et Hurni, 2006), et faible cout et n'a pas été reconnue pour avoir des effets secondaires notables (Santos et al., 2016). Mentionnons aussi que les conditions extrêmes (salinité et pH) dans lesquelles la spiruline se développe assurent l'hygiène des cultures, car bien peu d'autres micro-organismes sont capables de survivre dans de telles conditions (Falquet et Hurni, 2006). De nos jours, la spiruline est un complément alimentaire et nutritionnel parfait pour le 21^{ème} siècle par l'organisation des nation unies pour l'alimentation et l'agriculture (Rosario et Josephine, 2015). Nous espérons par ce travail donner une vision sur aspects nutritionnels est certaine activité thérapeutique de la spiruline.

II. Utilisation comme nourriture :

De essais cliniques et expérimentaux ont montré que *A. Platensis* peut être utilisé à la fois pour la sécurité humaine et animale. De nombreuses études ont également été menées pour expliquer les avantages de cette microalgue intéressante.

✓ Chez l'homme :

La spiruline a une valeur nutritionnelle. De plus, ils sont considérés comme des aliments fonctionnels. Contiennent des composés bioactifs, ou photochimiques, qui peuvent améliorer la santé des consommateurs en plus de leur rôle dans la nutrition de base, Le chemin qui mène de la recherche sur les algues à la production de nouveaux produits destinés à l'alimentation humaine et compléments alimentaires est fortement favorisé par des considérations industrielles, réglementaires et nutritionnelles. Les pilules et gélules à base de spiruline étaient utilisées comme complément alimentaire (**Hajati et Zaghari, 2019**).

Lorsque les cellules ou les filaments d'algues de la spiruline sont transformés en poudre, ils peuvent servir de base à une variété de produits alimentaires, tels que des soupes, des sauces a (**Vonshak, 1990**), les nouilles, les pâtes élégantes, nutritives, les desserts, les biscuits, les colorants naturels dans les chewing-gums (**Mei et Zao., 1997; Henrikson., 1994**). La poudre de spiruline est également un ingrédient d'une gaufrette à mâcher à l'orange et d'autres types de bonbons, de farines protéinées (10 pour cent de spiruline ajoutés au soja ou aux poudres d'œufs au lait) et de pastalina. La préparation d'aliments fermentés comme fromage, le yaourt et le tofu, a offert de nombreuses nouvelles possibilités à l'utilisation de la spiruline. De plus, les méthodes d'extraction pourraient fournir une poudre de spiruline décolorée (jaune-blanche), inodore et insipide, et donc largement utilisable. Une nouille verte au soja et au blé entier (**B.Habib et al., 2008**). Il peut être ajouté à de nombreuses boissons, notamment des boissons saines, du lait caillé et du thé vert afin d'améliorer sa valeur nutritionnelle. Pour conserver la couleur claire et la consistance de ces boissons, la spiruline doit être utilisée sous forme d'extrait ou de phycobilisyanine (**Mei et Zao, 1997**). Le mélange de thé et de micro-algues contient des composés nourrissants complets tout en modifiant les propriétés de la poudre de thé vert, par exemple une bonne mousse (**Danesi, 2010**).



Figure 13 : Quelques produits alimentaires commerciaux contenant de l'*Arthrospira*: (A); poudre de spiruline (B); pains plats roulés contenant de la spiruline (C); Suspension de spiruline à utilise dans les aliments et les boissons (D); Smoothie à la spiruline et aux fruits (E); Yaourt contenant de la chlorelle et de la spiruline (F) ;Chips de spiruline (Chisti, 2020).

✓ **Chez l'animal :**

De nombreuses études sur la spiruline ont été réalisées comme aliment alternatif pour les animaux (Habib et al., 2008). La spiruline peut être nourrie jusqu'à 10% pour les volailles (Ross, 1990). Une augmentation de la teneur en spiruline jusqu'à 40 g/kg pendant 16 jours chez des poussins mâles de chair âgés de 21 jours, a entraîné une coloration jaune et rouge de la chair peut être due à l'accumulation du pigment jaune, la zéaxanthine (toyomizu et al., 2001). Comme la volaille, les porcs et les lapins peuvent également recevoir jusqu'à 10 % de l'alimentation (Nedeva et al., 2016; Peirett et Meineri., 2008). Chez les bovins, une augmentation de la teneur en spiruline a entraîné une augmentation de la production laitière et du poids (Peirett et Meineri., 2008; Kulpys et al., 2009). La spiruline comme matière première alternative et stimulant immunitaire pour le buffle à grande bouche (Kulpys et al., 2009). Le poisson-lait, le cric rayé de culture (Ayyappan, 1992). La carpe (Ramkrishnaet al., 2008). La dorade rouge (Mustafa et al., 1994). Le tilapia (Olvera-

Novoa et al.,1998). Le poisson-chat (Ali Md, 2014). Le jaune la queue (G"uroy et al., 2012). Le poisson zèbre (Geffroy et Simon., 1981). La crevette (Cuzon et al., 1981 ; Tayag et al., 2010). Ormeau (Britz., 1996). A été établie avec une recommandation en toute sécurité allant jusqu'à 2 % de spiruline par jour dans l'alimentation aquacole (Habib et al., 2008).

Il est étonnant que toutes ces différentes caractéristiques existent dans cette microalgue spécifiques c'est pourquoi les preuves scientifiques qualifient cette microalgue de "super aliment. Néanmoins s à cet égard, il est toujours nécessaire de poursuivre les études sur les additifs naturels tels que *A. platensis* pour expliquer l'étude de leurs effets sur les humains et les animaux (Seyidoglu et al., 2017).

III. Activités thérapeutiques de la spiruline

La spiruline présente de nombreux avantages médicaux ainsi qu'une importance curative, par exemple, l'assurance du foie et des reins, l'amélioration de la qualité du sang, les avantages pour le diabète, la prévention des nuisances hépatiques et rénales, l'activité d'agent de prévention du cancer (Annapurna et al., 1991).

Il existe quelques usages médicaux de *Arthrospira platensis*:

III.1. Activité Antioxydant

Plusieurs études ont démontré que la spiruline possède une activité antioxydant importante à la fois in vitro et in vivo (Manjo et al., 1992).

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 (Goulambasse, 2018). L'extrait de protéine de *A. Platensis* peut piéger les radicaux hydroxyle et peroxy et supprimer l'activité contre la peroxydation des lipides (Bermejo et al., 2008). L'activité chélatrice de la spiruline inhibe la formation du complexe ferrozine-Fe⁺² grâce à ses composés antioxydants donneurs d'électrons (Gad et al., 2010).

III.2. Activité Antibactérien

L'activité antimicrobienne de l'extrait de spiruline avec différents solvants sur un large spectre de bactéries Gram négatives et Gram positive a également été étudiée l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique de *A. platensis* attribuée à l'acide γ -linolénique

(Demule et al., 1996). Mendiola et al., (2007) ont étudié les activités antimicrobiennes de l'extrait de spiruline contre *staphylococcus aureus* (bactérie gram positif), *Escherichia coli* (bactérie gram négatif), *candida albicans* (levure) et *Aspergillus niger* (champignon). Les résultats ont montré que parmi les micro-organismes mentionnés, *C. albicans* était le micro-organisme le plus sensible à toutes les fractions de spiruline extraites par fluide supercritique. Cette activité antimicrobienne pourrait être liée à un effet synergique des acides gras (Mendiola et al., 2007). Mala et al., (2009) ont étudié les activités antibactériennes de divers extraits organiques et aqueux de *A. platensis* contre différentes pathogènes humaines par la méthode de diffusion sur gélose solide. L'activité antimicrobienne maximale et minimale des extraits aqueux a été observée contre *klebsiella pneumoniae* et *proteus vulgaris*, respectivement. L'extrait d'acétone a également montré l'activité biologique la plus élevée contre la pneumonie à *klebsiella* (Mala et al., 2009).

III.3. Activité anti viral

La spiruline contient tous les composés bioactifs dans sa construire un système immunitaire sain, qui élimine également les radicaux libres. Les composés bioactifs extraits de la spiruline ont une activité inhibitrice contre une grande variété de virus tels que le VIH-1, le HSV-1, HSV-2 le HCMV, la grippe de type A, la rougeole, etc. Il a été démontré que *Arthrospira platensis* réduit la duplication du VIH-1 chez l'homme lignées de lymphocytes T, cellules mononucléaires du sang périphérique et cellules de langerhans (Nowruzi et al., 2020). Les composants antiviraux les plus probables de la spiruline sont la protéine phycocyanine, les fragments de polysaccharides sulfatés, le GLA et certains sulfolipides. Le polysaccharide sulfaté de la spiruline éjecte son activité antivirale en supprimant la réplication des virus de cytomégalovirus humain, de l'herpès simplex, de l'immunodéficience humaine, de la grippe A, des oreillons, de la rougeole et du syndrome des points blancs. La concentration efficace de calcium dans la spiruline diminue la multiplication virale de 50%. On dit aussi que les souches de spiruline contiennent 2 à 5% de sulfolipides, qui sont utiles contre le virus de l'immunodéficience humaine, en particulier contre l'ADN polymérase pour une inhibition de 50% du virus. L'allophycocyanine extraite de *Arthrospira platensis*, a révélé un acte antiviral contre l'entérovirus 71 (Abd El-Baky et El-Baroty, 2020).

III.4. Activité anti inflammatoire

L'inflammation, qu'est également une composante majeure de plusieurs pathologies et qui est étroitement liée au stress oxydant, peut être diminuée par la spiruline. Une multitude

de travaux ont démontré les effets anti- inflammatoires de la spiruline (**Muga et Chao., 2014**). Elle réduit l'activité de cytokines inflammatoires, telles que l'IL-6 et le TNF- α . Elle est également capable d'inhiber le facteur de transcription NF- κ B. Ce dernier permet la production de certaines cytokines inflammatoires (**Deng et Chow, 2010**).

L'extrait éthanolique de *Arthrospira platensis* conserve une activité anti-inflammatoire significative dans les deux tests d'œdème de la patte crue induit par la carraghénane. La spiruline pourrait contrôler les effets indésirables de la colite ulcéreuse persuadée par l'acide acétique chez les rats, démontrée en augmentant l'activité de l'enzyme antioxydant CAT et SOD en plus de la teneur en GSH avec, un épuisement considérable de la peroxydation lipidique, ce qui rend le MED et l'inclusion de protéines carbonyles pour contrôler également les prostaglandines. Comme cytokines pro inflammatoires (**Nowruzi et al., 2020; Wu et al., 2016**).

L'effet anti-inflammatoire semble être le résultat de la phycocyanine qui inhibe la formation de leucotriène B₄, un métabolite inflammatoire de l'acide arachidonique (**Manoj et al., 1992**). La C-phycocyanine est un piègeur de radicaux libre (**Ciferri, 1983**). et a des effets hépato protecteurs importants (**Torres-Duran et al., 2007**).

III.5. Activité anti cancéreuse

Certaines études ont montré que l'extrait de spiruline peut prévenir ou inhiber les cancers chez les animaux et les humains. L'évaluation in vitro propose que les polysaccharides de la spiruline améliorent l'activité enzymatique du noyau cellulaire et la synthèse de réparation de l'ADN. L'extrait aqueux de *Arthrospira platensis* a inhibé la croissance des cellules humaines du carcinome du côlon et des cellules du carcinome hépatocellulaire (CHC) dans des études in vitro. L'extrait chloroformique de *Arthrospira platensis* brut et de *Chlorella vulgaris* a inhibé la viabilité des cellules cancéreuses du sein in vitro. En fait, il a l'activité antiproliférative contre les cellules cancéreuses. L'extrait méthanolique de Spiruline a inhibé la croissance de la lignée cellulaire du cancer du sein humain et de la lignée cellulaire du cancer du sein humain L20B en une courte période d'incubation. L'extrait de *A. platensis* empêche également la croissance des lignées cellulaires de carcinome intestinal de souris. L'extrait éthanolique à 70% de Spiruline montre un effet considérable de cytotoxicité dans les lignées cellulaires humaines de leucémie aiguë kasumi-1 et de leucémie myéloïde chronique k 562. Outre ces cellules cancéreuses, l'extrait de spiruline inhibe la croissance des cellules cancéreuses du foie, des cellules cancéreuses de

l'hépatome et du poumon chez la souris, du carcinome épidermoïde de la bouche chez l'homme et le hamster, du carcinome épidermoïde et de la tumeur des poches buccales chez le hamster (**Ramakrishnan, 2013**). Selon l'étude menée par Mathew et al., (1995) Sur une cohorte de 77 patients provient d'essais antérieurs sur des hamsters ayant montré une régression tumorale après application topique ou prise entérale d'extrait de Spiruline (**Shklar et Shwartz, 1988; Shwartz et Shklar, 1987**). Ils ont rapporté que 45% de leur cohorte d'étude ont montré une régression complète de la leucoplasie après avoir pris des suppléments de spiruline pendant 1 an.

III.6. Activité anti-anémique

L'anémie fait référence à une diminution du nombre de globules rouges circulants et est le trouble sanguin le plus courant. Un apport nutritionnel insuffisant, des métaux toxiques et une contamination de l'environnement entraînent une perturbation des voies de production des globules rouges, ce qui entraîne une anémie. En outre, la carence en fer est la cause la plus fréquente d'anémie chez les femmes enceintes, les personnes âgées et les enfants (Selmi et al., 2011). Dans les revues de littérature, plusieurs études ont montré que plusieurs types d'anémies ont été traitées par *A. platensis* en raison de sa teneur en phycocyanine (**Simsek et al., 2009 ; Kostic et al., 1993**). Le mécanisme de la C-phycocyanine s'explique par la stimulation de l'hématopoïèse et de l'érythropoïétine endogène (Epo). L'Epo est connue comme indicateur de la prolifération et de la différenciation des érythrocytes. Parallèlement à ce résultat, certaines recherches ont également démontré que *A. platensis* a un impact positif sur différents types d'anémie en raison de ses composants riches tels que les acides aminés essentiels, les acides foliques, la vitamine B12 et la teneur élevée en fer qui jouent un rôle important dans érythropoïèse (**Yamani et al., 2009; Hug et Von der Weid, 2011; Mani et al., 2000**). Il existe également des études animales concernant l'anémie qui ont montré les effets bénéfiques de *A. platensis* sur les niveaux d'hémoglobine et de fer sérique (**Simpore et al., 2005; Becker et al., 1986; Hosoyamada et al., 1991**).

III.7. Obésité

Les maladies cardiovasculaires, l'obésité et le diabète sont liés les uns aux autres. Le risque de développement du cancer est accru par ces maladies chez les humains et les animaux. Sur ce point, certains chercheurs pointent les effets de *A. platensis* sur l'obésité et le diabète. Au cours d'une étude de 4 semaines, un supplément de *A. platensis* (2,8 g) a été pris par des personnes obèses, et le poids corporel total et les valeurs biochimiques ont été

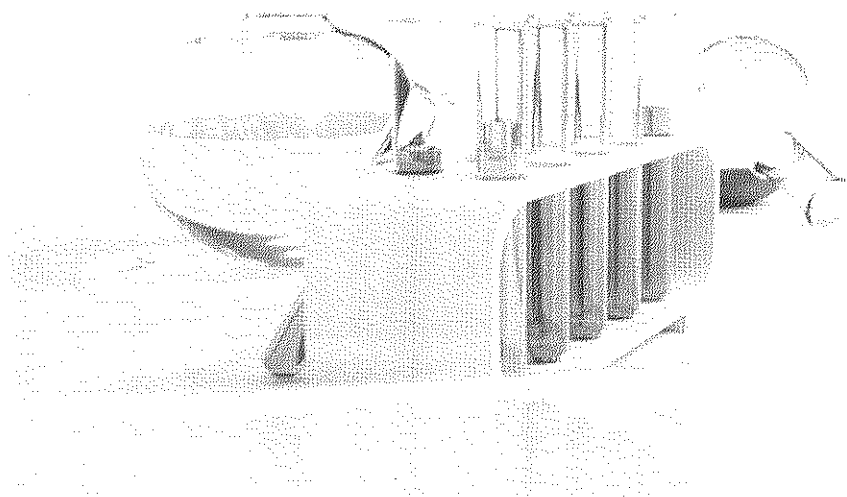
déterminés. Une réduction du poids corporel et une baisse du taux de cholestérol chez les humains obèses ont été observées, au niveau significatif inférieur. Aussi, les autres chercheurs ont observé les effets positifs sur les diabétiques en utilisant des suppléments de *A. platensis* (Becker et al., 1986; Parikh et al., 2001) Dans ces études, des humains obèses avec une glycémie élevée et des profils lipidiques ont été étudiés pour déterminer le mécanisme antidiabétique de cette microalgue et ont suggéré que l'acide gamma-linolénique de *A. platensis* pourrait être attribué à la réduction de l'hyperglycémie (Seyidoglu et al., 2017).

A. platensis a un effet hypocholestérolémiant dû à sa composante C-phycocyanine. Il a été rapporté que la C-phycocyanine inhibe la réabsorption des acides biliaires dans l'iléon ainsi que le cholestérol dans le jéjunum (Yeganeh et al., 2015; Bhat et Madyastha, 2001). Dans certaines études, les humains utilisant des suppléments de *A. platensis* ont montré des résultats inférieurs dans les niveaux de cholestérol et de triacylglycérols, et une augmentation des niveaux de lipoprotéines de haute densité. Tous ces effets ont indirectement réduit la pression artérielle diastolique et systolique et ont eu un effet protecteur sur le système cardiovasculaire (Seyidoglu et Galip, 2014; Juarez-Oropeza et al., 2009; Samuels et al., 2002).

Partie pratique

Chapitre I

Matériels et Méthodes



La partie expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED pendant la période allant de février 2022 à la fin de mai 2022.

I.1. Matériel

I.1.1. Matériels biologiques

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est deux échantillons de biomasse sèche de la souche *Arthrospira platensis* cultivé dans deux régions différentes X_1 et X_2 (spiruline X_1 , spiruline X_2). Le choix de ce matériel biologique est du principalement à la richesse de cette espèce en composé bioactives.

Nous broyons de deux échantillons de spiruline avec une rectifieuse électrique pour obtenir les deux poudres de spiruline. Les deux derniers sont stockés à l'abri de la lumière dans des flacons en verre fermé hermétiquement en vue de leurs analyses.

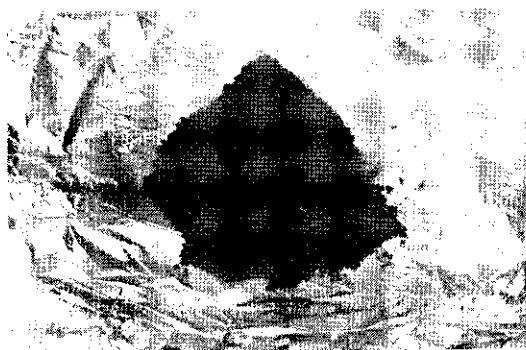


Figure (14): poudre de la spiruline cultivée en région X_1 .



Figure (15): poudre de la spiruline cultivée en région X_2 .

I.1.2. Matériel non biologique et équipement

Il s'agit de tout matériel, autre que biologique englobant la verrerie, l'appareillage et les réactifs chimiques et organiques utilisés dans l'étude expérimentale.

I.1.2.1. Screening phytochimique

Lors de Screening phytochimique nous avons utilisé les outils, appareils, solutions et réactifs répertoriés dans le tableau (6)

Tableau 6 : les outils, appareils, solutions et réactifs utilisés dans les tests phytochimique

Appareils	Solutions et réactifs	Outils
Broyeur électrique	Eau distillée (H ₂ O)	Matériel biologique
Balance Électronique	Réactif de Fehling	Béchers
Plaque chauffante	Chlorure de fer anhydre (FeCl ₃)	Entonnoir
	Alcool iso amylique (C ₅ H ₁₁ OH)	Filtre en papier
	Acide acétique anhydre (CH ₃ COOH)	Tubes à essai
	Iode (I ₂)	Support de tube à essai
	Magnésium métallique (Mg)	Pipette
	Hydroxyde de sodium	Spatule
	Acide chlorhydrique 1N (HCl)	Eprouvettes graduées
	Sulfate de sodium anhydre	
	Méthanol (CH ₃ OH)	
	Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	
	Chloroforme (CHCl ₃)	

I.1.2.2. Extraction

Lors d'extraction des composés phénoliques nous avons utilisé les outils, appareils et solutions répertoriés dans le tableau (7)

Tableau 7 : les outils, appareils et solutions utilisés d'extraction

Appareils	Solutions	Outils
Broyeur électrique	Méthanol	Matériel biologique
Balance Électronique	Acétate d'éthyle	Béchers
Rota vapeur	Eau distillée (H ₂ O)	Entonnoir
	Acetone	Filtre en papier
	Dichloromethane	Spatule
		Ballon
		Ampoule à décanter

I.1.2.3. Dosage quantitative des composés phénoliques

Lors de Dosage quantitative des composés phénoliques nous avons utilisé les outils, appareils et solutions répertoriés dans le tableau (8)

Tableau 8 : les outils, appareils et solutions utilisés dans Dosage quantitative des composés phénoliques

Appareils	Outils	Solutions	
Balance Electronique Spectrophotomètre UV-visible Jenway	Extraits alcooliques	Réactif de folin-ciocalteu (10%)	Dosage des polyphénols totaux (PPT)
	Béchers	Carbonate de sodium (Na2 Co3) (7.5%)	
	Tubes à essai	Acide gallique	Dosage des flavonoids (FVT)
	Support de tube à essai	Méthanol	
	Micropipette	AlCl3(2%)	Dosage de tanins condensés (TC)
	Spatule	Acide quercitin	
	Les cuves	Methanol	
		Solution de vanilline (4% dans le méthanol)	
		Acide chlorhydrique concentré (HCL)	
		La catéchine	
		Méthanol	

1.1.2.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Lors de l'évaluation de l'activité antioxydante nous avons utilisé les outils, appareils et solutions répertoriés dans le tableau (9)

Tableau 9 : les outils, appareils et solutions utilisés dans l'évaluation de l'activité antioxydante

Appareils	Outils	Solutions	
Balance Électronique Spectrophotomètre UV-visible Jenway Bain de Marie	Extraits alcooliques Béchers Tubes à essai Support de tube à essai Micropipette Spatule Les cuves Feuille d'aluminium	Acide Sulfurique (H ₂ SO ₄) (0,6 M) Phosphate de sodium (28 mM) Molybdate d'ammonium (4 mM) acide ascorbique Methanol	Activité antioxydante totale (CAT)
		Solutions méthanolique du DPPH (4mg/100ml MeOH) acide ascorbique Methanol	Piégeage du radical libre DPPH (2,2- diphenyl-1- picrylhydrazil)

I.1.2. 5. Evaluation de l'activité antisolaire

Lors de l'évaluation de l'activité antioxydante nous avons utilisé les outils, appareils et solutions répertoriés dans le tableau (10).

Tableau 10 : les outils, appareils et solutions utilisés dans l'évaluation de l'activité antioxydante.

Appareils	Solutions	Outils
Spectrophotomètre UV-visible Jenway	Méthanol Acétate d'éthyle Acetone	Extraits alcooliques Tubes à essai Support de tube à essai Micropipette Les cuves

I.2. Méthodes

I.2.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives permettant la détermination des différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal grâce à des réactions physicochimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais les principaux sont les polyphénols totaux y compris les flavonoïdes, les tannins, les coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stérols, les terpènes... etc. Le screening phytochimique a été réalisé par des réactions usuelles à l'aide des réactifs de caractérisation classiques (Lendvai et al., 2002 ; Bruneton, 2009).

Les tests phytochimique ont été réalisés sur les extraits préparés de la plante en milieu aqueux (décoction, infusion) et en milieu organique (macération en milieu méthanolique), par des techniques de caractérisation qualitatives.

Les résultats obtenus ont été évalués comme suit : +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement Positif ; - : Négatif.

I.2.1.1 Préparation des solutions à analyser

*Préparation du décocté

Le décocté de la plante est préparé par l'addition de 10g de poudre de spiruline à 100 ml d'eau distillée. L'ensemble a été porté à l'ébullition pendant 15 minutes de temps, le

mélange est filtré et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml par l'eau distillée après refroidissement. (Carvalho et al., 2005).

Les filtrats obtenus sont représentés par la (Fig. 16).

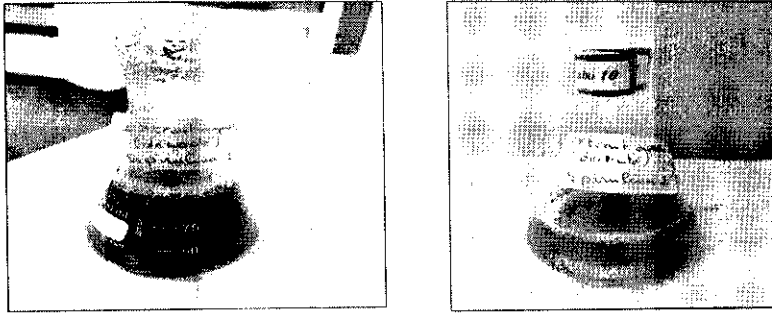


Figure 16: Décocté à 10% des deux échantillons de *Arthrospira platensis* de deux régions X_1 et X_2 .

***Préparation de l'infusé à 5%**

L'infusé à 5% est préparé par l'addition de 5g de poudre de spiruline à 100 ml d'eau distillée bouillante. Après 15 minutes de temps, le mélange est filtré et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml par l'eau distillée (Bassène, 2012).

Les filtrats obtenus sont représentés par la (Fig. 17).

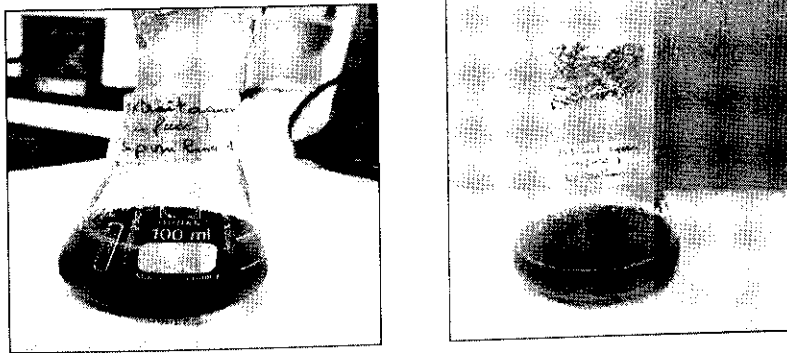


Figure 17: Infusés à 5% des deux échantillons de *Arthrospira platensis* de deux régions X_1 et X_2 .

***Préparation de macéré**

Le macéré est préparé par l'addition de 10g de poudre de spiruline à 100ml de méthanol. Le mélange est macéré pendant 24h, puis filtré (Azzi, 2013).

Les filtrats obtenus sont représentés par la (Fig. 18).

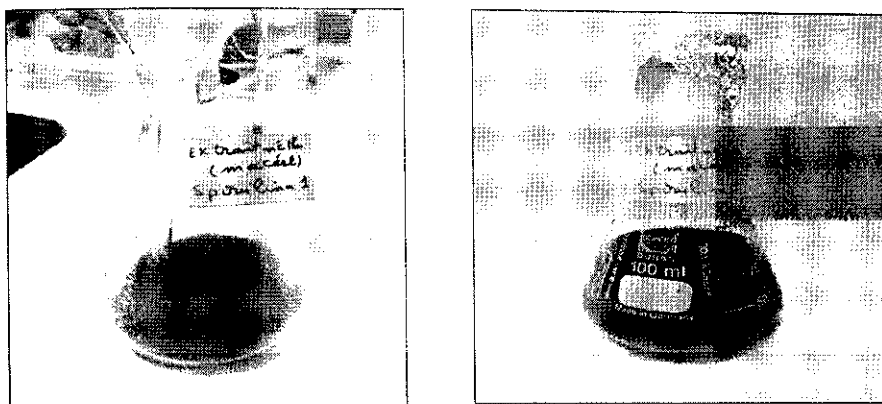


Figure 18: Macéré des deux échantillons de *Arthrospira platensis* de deux régions X_1 et X_2 .

1.2.1.2. Détection des flavonoïdes

a. Mode opératoire

Un mélange de quelques gouttes de Mg^{2+} et de gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 1 ml de l'infusé.

b. Expression de résultat

L'apparition de la coloration rose, orange ou rouge indique la présence des flavonoïdes (Vijayakumari et al., 2013).

1.2.1.3. Détection des tanins

a. Mode opératoire

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml de l'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de $FeCl_3$. Après agitation d'infusé.

b. Expression de résultat

La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Vijayakumari et al., 2013).

1.2.1.4 Détection des Alcaloïdes

a. Mode opératoire

2ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutés à 2ml d'extrait. Puis quelques gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutées.

b. Expression de résultat

La présence de couleur verte ou de précipité blanc indique la présence d'alcaloïdes (Shankar Mane et Chakraborty, 2019).

I.2.1.5. Détection des phénols

a. Mode opératoire

2ml d'eau distillée suivis de quelques gouttes de chlorure ferrique à 10% ont été ajoutés à 1ml de l'extrait.

b. Expression de résultat

La formation de couleur bleue ou verte indique la présence phénols (**Shankar Mane et Chakraborty, 2019**).

I.2.1.6 Détection des Quinones

a. Mode opératoire

1ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) a été ajouté à 1ml d'extrait.

b. Expression de résultat

La formation de couleur rouge indique la présence de quinones (**Shankar Mane et Chakraborty, 2019**).

I.2.1.7 Détection des coumarines

a. Mode opératoire

1ml de NaOH à 10% ont été ajoutés à 1ml de l'extrait.

b. Expression de résultat

La formation de couleur jaune indique la présence de coumarines (**Shankar Mane et Chakraborty, 2019**).

I.2.1.8 Détection des Stérols et triterpènes

a. Mode opératoire

L'extrait à tester a été obtenu à partir de 1 g de poudre et 20 ml d'éther laissés en macération pendant 24 heures, puis filtrés et complétés à 20 ml avec de l'éther. Après avoir évaporé à sec 10 ml de l'extrait, nous avons dissout le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique puis 1 ml de chloroforme. Nous avons ensuite partagé la solution obtenue, dans deux tubes à essai. L'un servant de témoin ; alors que pour le second, nous avons mis dans le fond du tube à essai à l'aide d'une pipette, 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré.

b. Expression de résultat

A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes (**Boutellis, 2014**).

I.2.1.9. Détection des Composés réducteurs**a. Mode opératoire**

Introduire 5ml de décocté dans une capsule et évaporer à sec au bain-marie. Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling.

b. Expression de résultat

La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs. (Evans et al., 2009).

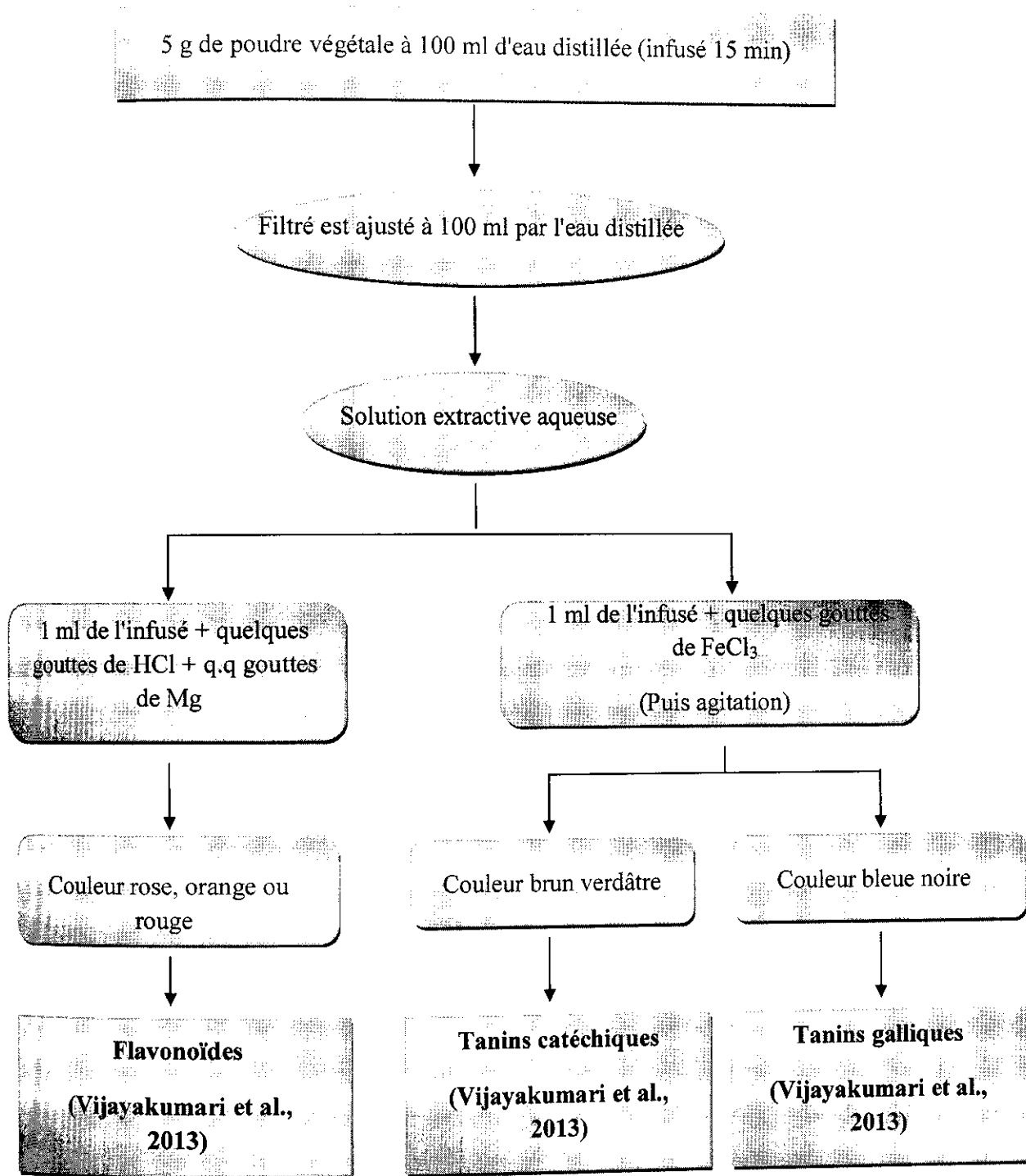
I.2.1.10 Détection des Saponosides**a. Mode opératoire**

Dans une série de 10 tubes à essai de $160 \times 16\text{mm}$, numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1,2,...,10 ml de décocté et ajuster le volume à 10 ml dans chaque tube avec de l'eau distillée. Agiter ensuite chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes en raison de deux agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15mn et mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. (N'Guessan et al., 2009).

b. Expression de résultat

Le tube dans lequel la hauteur de mousses est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse.

Indice de mousse = $1000 / n^\circ$ du tube ou la hauteur de mousse est de 1 cm



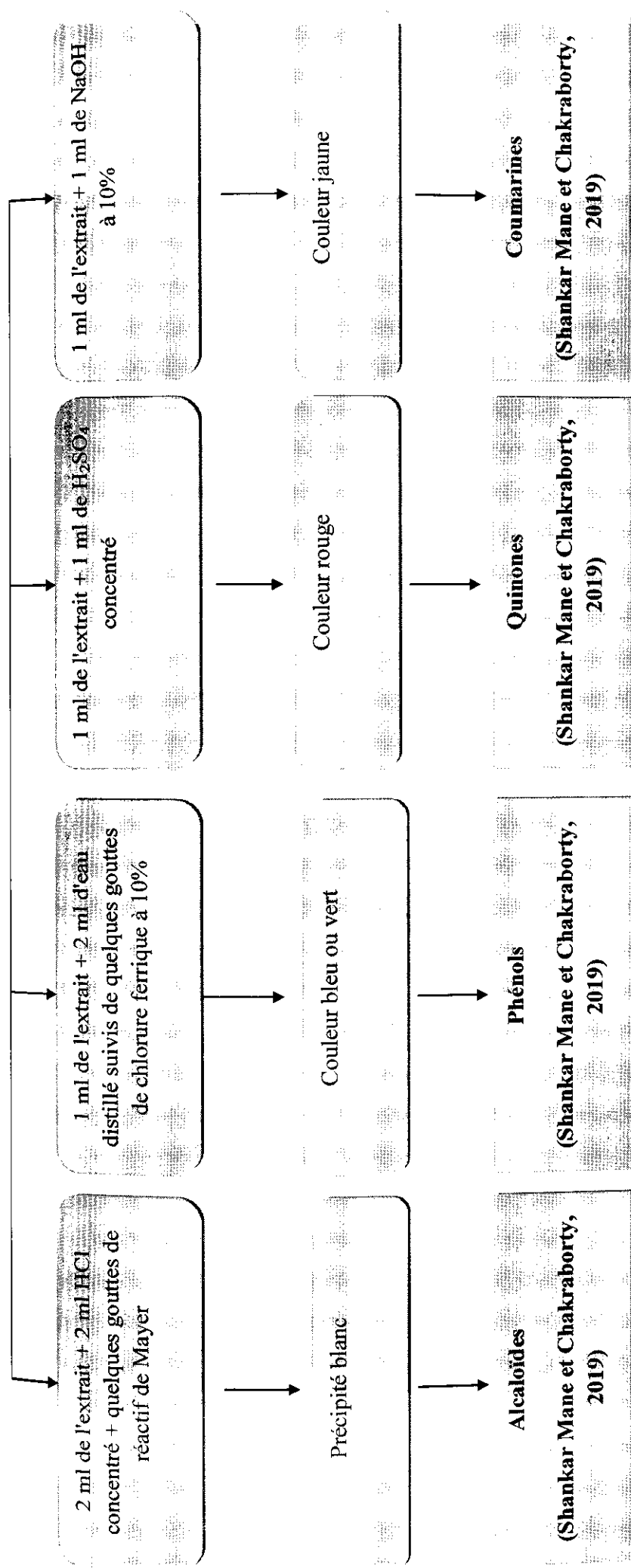


Figure 19 : Tests phytochimique 1

10 g de poudre végétale à 100 ml d'eau distillée (décocté 15 min)

Filtré est ajusté à 100 ml par l'eau distillée

Solution extractive aqueuse

5 ml de décocté évaporé à sec au bain-marie + 1 ml de réactif de Fehling

Précipité rouge brique

Composées réducteurs
(Evan et al., 2009)

Préparer une série de dilutions (10 solutions) de 10% à 100%

Le tube dans lequel la hauteur de mousses est 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse.

Indice de mousse = $1000/n^\circ$ du tube où la hauteur de mousse est de 1 cm

Saponosides

(N'Guessan et al., 2009)

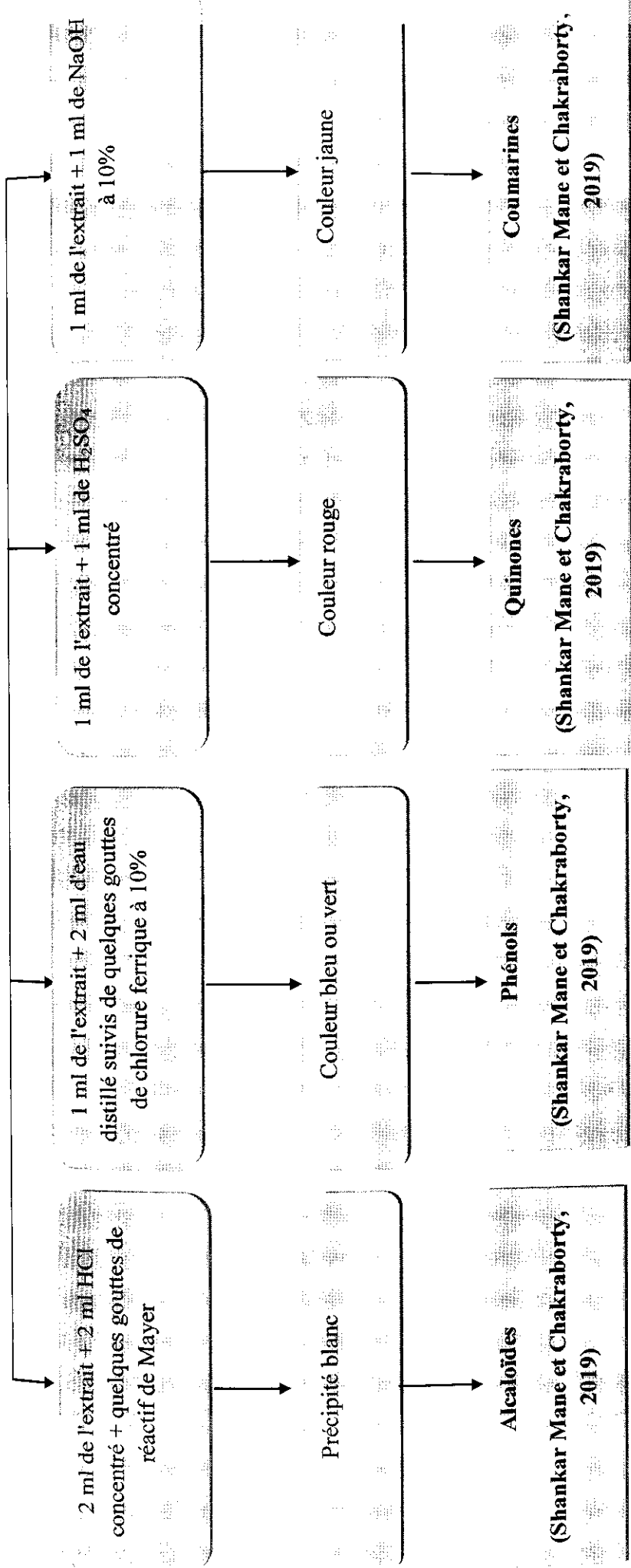


Figure 20 : Tests phytochimique 2

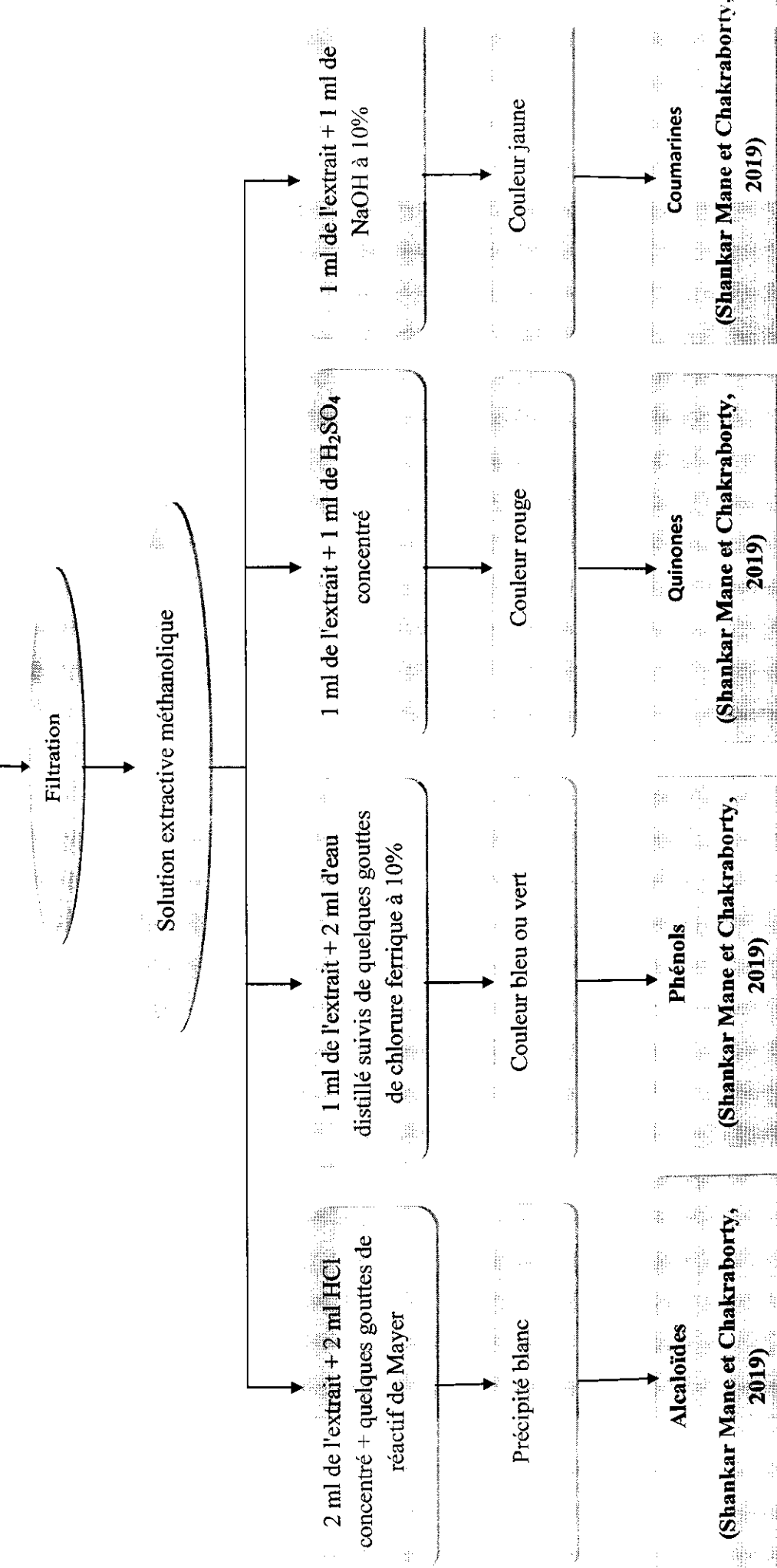


Figure 21 : Tests phytochimique 3

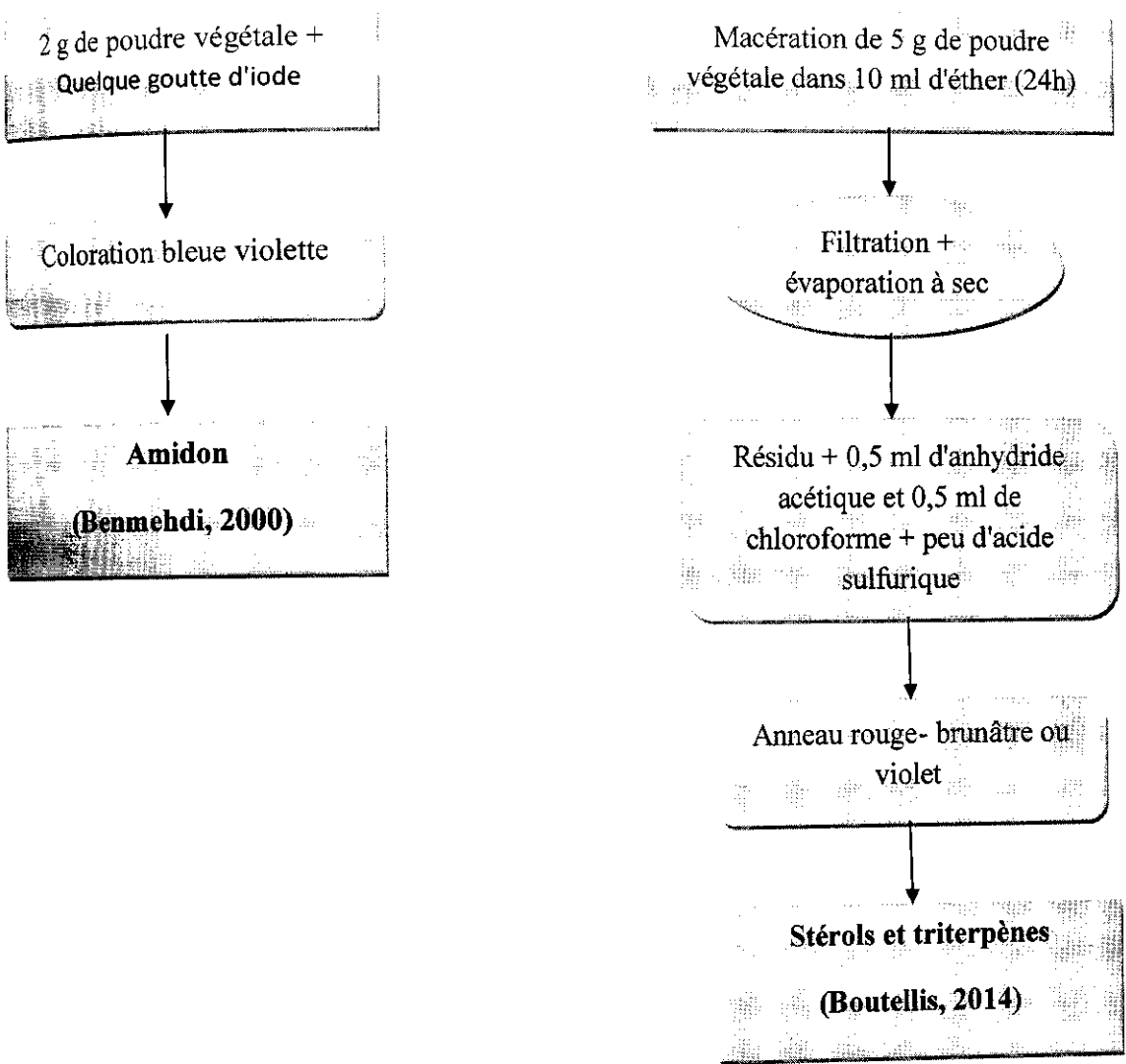


Figure 22 : Tests phytochimique 4

1.2.2. Extraction des composés phénoliques

1.2.2.1. Préparation des extraits bruts (polyphénols)

Dans ce travail nous avons utilisée la méthode le plus connue chez les phytochimistes (la macération).

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide qui consiste à faire tremper une substance (ici matière biologique) dans un solvant froid ou chaud pour extraire les espèces (molécules) solides ou liquides présentes dans une substance naturelle par sa dissolution dans ce solvant à température ambiante (Bellebcir, 2008).

En a placé 10g de matériel biologique (*Arthrospira platensis*) dans un erlenmeyer avec 150 ml de méthanol, pendant 24 h, après filtration, les solutions méthanoliques sont évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 50°C (Matkowski et Piotrowska, 2006).

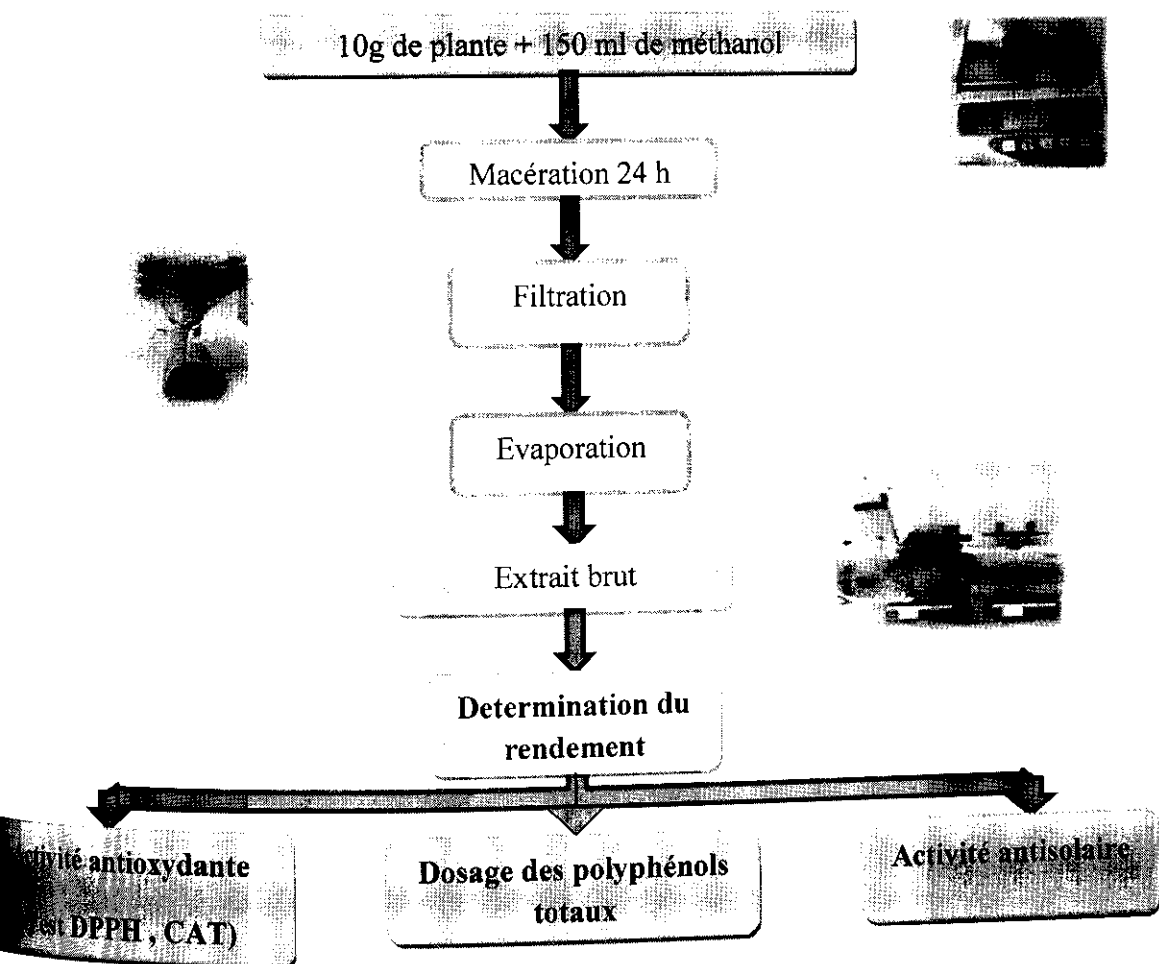


Figure 23 : Protocole d'extraction des extraits bruts.

1.2.2.2. Extraction des flavonoïdes

10g de matériel biologique (*Arthrospira platensis*) sont placé dans un erlenmeyer avec 150 ml de méthanol pendant 24 h, après filtration, les solutions méthanoliques sont évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 60°C. Le solvant que nous avons employé pour le partage liquide-liquide est : l'acétate d'éthyle. Les résidus secs obtenus par évaporation du filtrat méthanolique de la plante étudiée, est partagé entre 150 ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée dans une ampoule à décanter. Après agitation et décantation des deux phases, la phase d'acétate d'éthyle est récupérée et la phase aqueuse est à nouveau partagée avec 150 ml d'acétate d'éthyle. La phase d'acétate d'éthyle est récupérée, additionnée à la précédente et séchée par un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60°C. Cette fraction est la phase d'acétate d'éthyle (Bekkara et al, 1998).

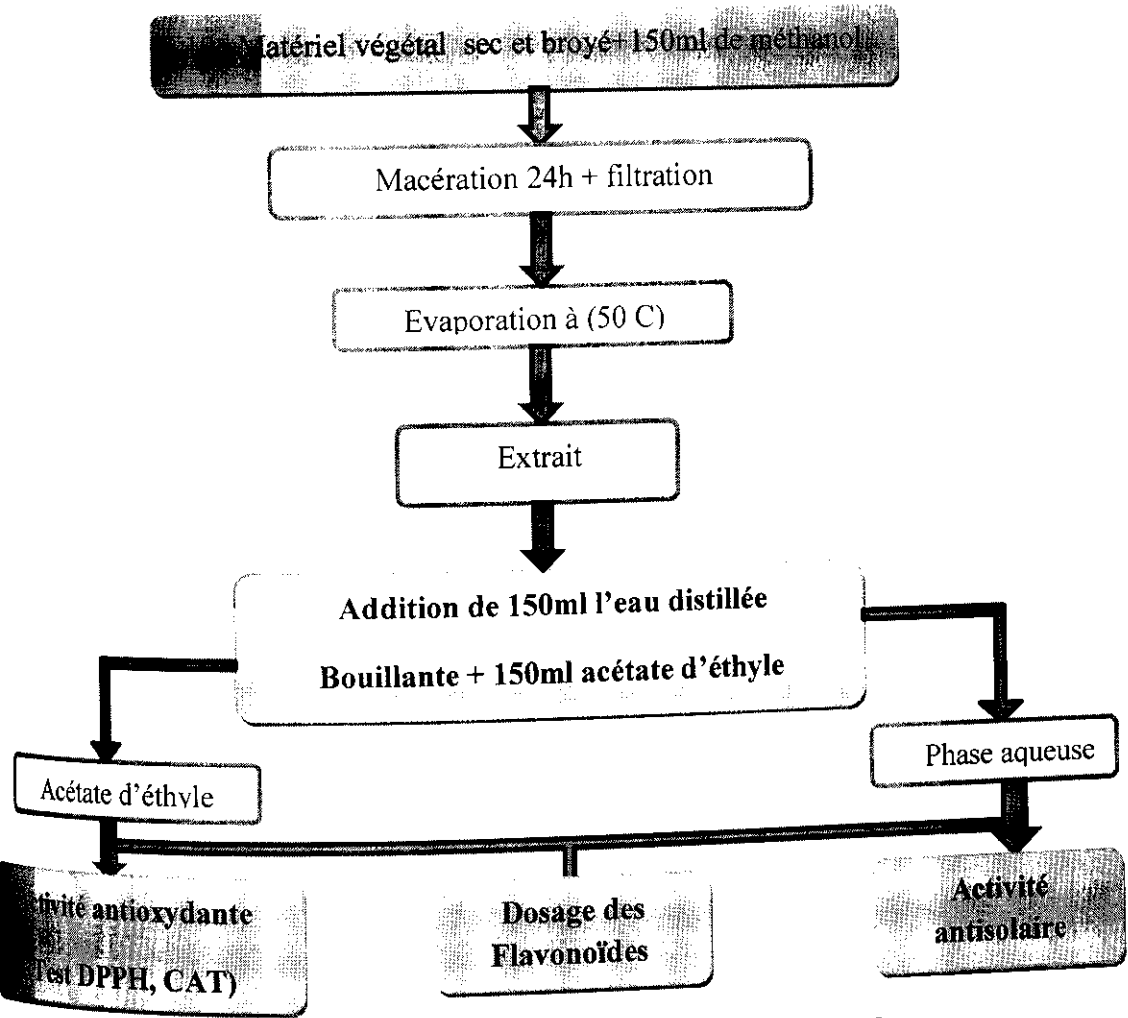


Figure 24 : Protocole d'extraction des flavonoïdes.

1.2.2.3. Extraction des tanins

30g de poudre de matériel biologique (*Arthrospira platensis*) a été extraite par 145 ml du mélange acétone/eau distillée (102/43, V/V) durant trois jours à une température ambiante. La solution est filtrée et évaporez à 40°C par un rota vapeur pour éliminer l'acétone puis, la phase aqueuse est lavée par 150 ml de dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Après la séparation de la phase organique, la phase aqueuse a été extraite deux fois avec 150 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est évaporée à sec à 40°C par un rota vapeur (Zhang et al, 2008).

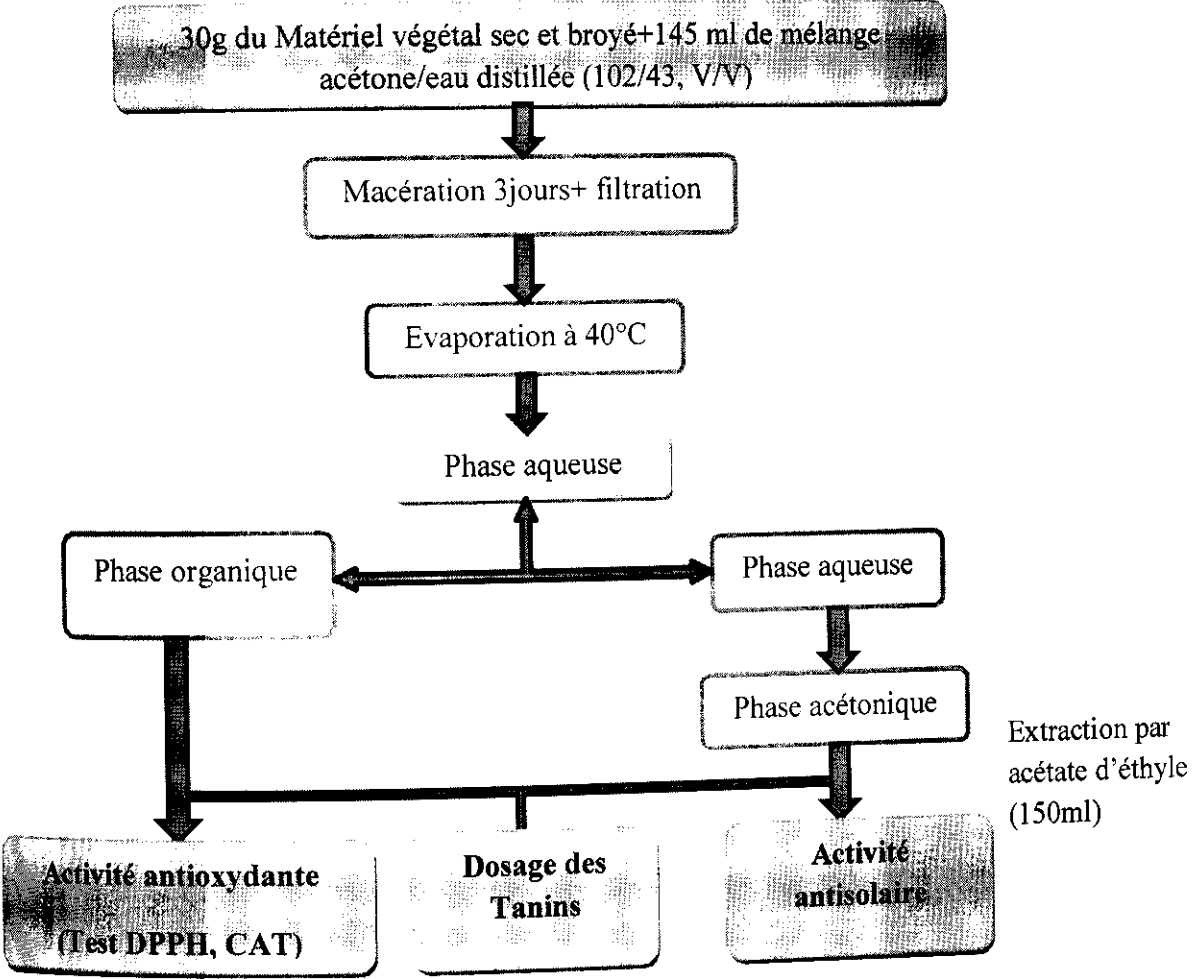


Figure 25 : Protocole d'extraction des tanins.

I.2.3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme étant le rapport entre le poids de l'extrait obtenue après l'extraction et le poids de la poudre utilisée.

Il est calculé par la formule suivante :

$$R \% = (PEB/PMV) \times 100$$

R : Rendement.

PEB : Poids de l'Extrait Brut (g).

PMV : Poids de Matière biologique (g).

I.2.4. Dosage des composés phénoliques

I.2.4.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu selon la technique décrite par (Yap et al., 2009).

✓ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). La méthode de folin-ciocalteu est basée sur l'oxydation des cycles phénoliques, couplée à la réduction de l'acide phosphomolybdique (Castellucci, 2010).

Le réactif de folin-ciocalteu voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules, il réagit avec la fonction-OH des phénols, cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleu foncé, permettant de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage à partir des concentrations connues (Khatabi et al., 2011).

✓ Mode opératoire

0.2 ml de la solution d'extrait brut sont additionnés à 1ml du réactif de folin-ciocalteu (diluer 10 fois) après 5 min, ont ajouté 0.8ml de carbonate de sodium (Na₂ Co₃) à 7.5 % le mélange est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue à 765 nm.

On a préparé la solution standard d'acide gallique de concentrations (0.01-0.12 mg/ml) pour l'estimation totaux des composés phénoliques des extrais méthanoliques.

La concentration des polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalent en acide gallique par gramme de l'extrait (Nabti et Belhattab, 2016).

1.2.4.2. Dosage des Flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux de notre extrait a été estimée par un dosage colorimétrique basée sur la méthode de (Abdou Bouba et al., 2010) avec quelques modifications.

✓ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (Chang et al., 2002). L' AlCl_3 forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols, ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm (Ribéreau-Gayon, 1968).

✓ Mode opératoire

0.5 ml de la solution d'extrait méthanolique sont additionnés à 0.5 ml d' AlCl_3 (2%), le mélange est incubé pendant 1heure à l'abri de la lumière on mesure l'absorbance à 430 nm. On a préparé la solution standard d'acide quercitine de concentrations (0.01-0.12mg /ml) pour l'estimation des flavonoïdes des extrais méthanoliques.

La concentration de flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent en acide quercitine par gramme de l'extrait (Mbaebie et al.,2012).

1.2.4.3. Dosage des Tanins condensés

✓ Principe

Le dosage des tanins condensés dans les extraits de *Salvia chudaei* est effectué selon la méthode de (Schofield et al., 2001).

Ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe la lumière à 500 nm.

✓ Mode opératoire

A 400 μl de chaque échantillon ou standard, on ajoute 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins

condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-0,5 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (Mg Ec/g E) (Schofield et al., 2001).

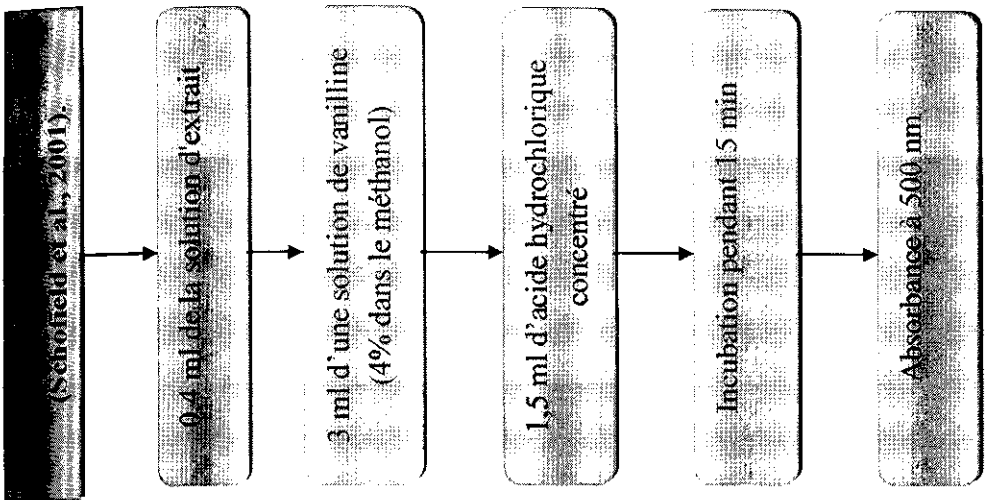
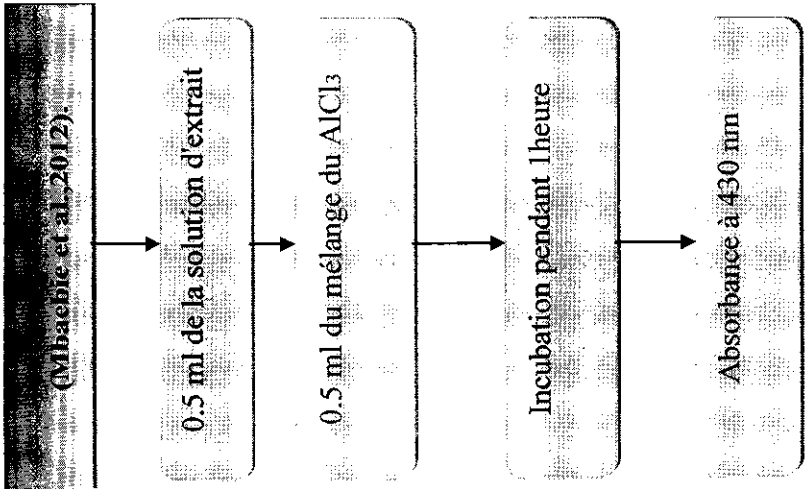
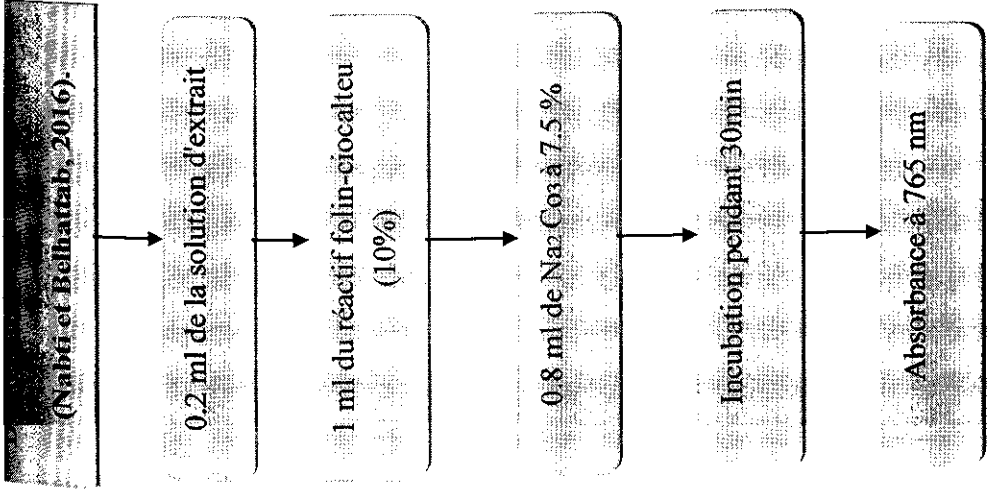


Figure 26: Protocole de dosage des polyphénols et flavonoids et tanin condensés

I.2.5. Etude de l'activité biologique

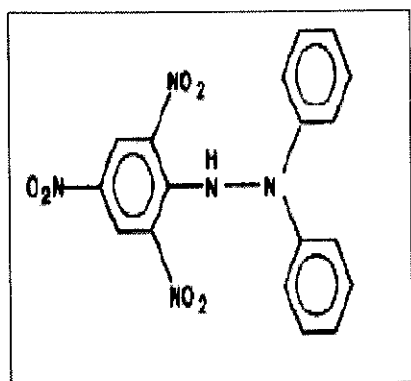
I.2.5.1. Activité antioxydante

Pour estimer l'activité antioxydant des extraits des tests a été réaliser : Mesure de la capacité de l'échantillon à déplacer les radicaux en utilisant la racine **DPPH°** (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) et le test de capacité antioxydant totale (CAT) ou test de divagation des racines.

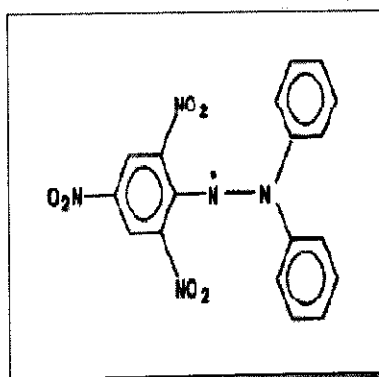
I.2.5.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH

✓ Principe

Le DPPH est un test anti-radicalaire selon Blois en 1958, ce test dépend de l'inhibition des radicaux libres DPPH, en fonction des la capacité à donner aux extraits (antioxydants) de l'hydrogène, et ceci est mis en évidence par la réaction de chromatographie radicalaire DPPH avec une couleur violette qui vire à une couleur plus petite (**Blois, 1958**), comme le montre le document.



1: Diphenylpicrylhydrazyl
(Radical libre)
(Songklanakarin, 2004).



2: Diphenylpicrylhydrazine
(non radical)
(Songklanakarin, 2004).

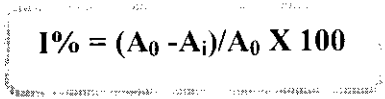
✓ Mode opératoire

Tout d'abord, une solution de DPPH avec une concentration de (0.1mM) a été préparée en dissolvant 4mg de DPPH dans 100ml de méthanol. Et pour préparer la solution d'origine, nous avons pris 5mg de chaque extrait et l'avons mélangé avec 5ml de méthanol, de sorte que la concentration de la solution d'origine est devenue 1mg/ml, et à partir de cette

concentration, nous avons préparé le reste des concentrations diluées en ajoutant du méthanol. Nous prélevons de chaque cocentration 50µl et y ajoutons 1000ul de DPPH, homogénéisons la solution et la mettons dans l'absorbance de la solution préparée est mesurée à une longueur d'onde de 517nm avec un spectrophotomètre UV-visible Jenway.

La méthode de travail sur l'acide ascorbique à sa comparaison avec l'efficacité des extrait (Dziri et al., 2012).

• Pourcentage de l'activité antiradicalaire


$$I\% = (A_0 - A_i) / A_0 \times 100$$

A₀ : l'absorbance optique du radical libre en l'absence de l'extrait.

A_i : l'absorbance optique du radical libre en présence de l'extrait.

• Calcul des IC50

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH•. Les valeurs d'IC50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition=f (concentrations)]. (Ouldyeou et al., 2018).

1.2.5.1.2. Test de capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO4²⁻ à molybdène Mo (V) MoO²⁺ en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Yakhlef, 2009).

✓ Mode opératoire

Un volume de 0.1 ml de chaque extrait est mélangé avec 1 ml de solution du réactif (0.6 ml acide sulfurique, 28 mg phosphate de sodium et 4 mg molybdate d'ammonium). Les tubes sont vissés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 1 ml de la solution du réactif et 0.1 ml du solvant utilise et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon (Penchev, 2010).

✓ Expression de résultat

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de la matière sèche (mg EAA/ g MS) (Penchev, 2010).

12.5.2. Activité antisolaire

Ces derniers jours, nous recevons des rayonnements UV corrosifs émis par le soleil et ils causent des dommages à notre peau, à cette fin, les substances naturelles extraites des plantes médicinales naturelles regorgent de flavonoïdes et composés phénoliques. L'objectif principal de la présente étude est la mesure de l'absorbance de l'extrait à différentes longueurs d'onde de 200 à 400 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible Jenway pour calculer le facteur de protection solaire afin d'évaluer l'activité antisolaire (Radhika et al., 2019).

✓ Mode opératoire

Prendre 1ml de solution de stock primaire dissous dans 9ml de méthanol marqué comme solution de stock secondaire qui est de 2mg/ml. Ensuite, les échantillons de stock secondaires remplis dans une cuvette conservée dans le méthanol du spectrophotomètre UV-visible Jenway sont utilisés comme contrôle. Observez ensuite l'absorbance en augmentant de 5nm de 200 à 400nm, puis l'absorbance obtenue est remplacée par la formule suivante utilisée pour calculer le facteur de protection solaire.

• Le SPF

Est défini comme le rapport de la dose érythémateuse minimale (DEM) du rayonnement solaire mesurée en présence et en l'absence d'un agent de protection solaire (Olosunde et al., 2012).

La DEM est définie comme l'intervalle de temps ou la dose d'irradiation par la lumière UV la plus faible suffisante pour produire un érythème minimal et perceptible sur la peau non protégée (Patil et al., 2009).

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \sum 320\text{-}290\text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}$$

CF = Facteur de correction.

EE = Spectre d'effet érythémal.

I= Spectre d'intensité solaire.

Abs = Absorbance des produits solaires.

Les valeurs d' $EE \times I$ sont constantes déterminées par (sayre et al., 1979).

Tableau 11 : Fonction produit normalisée utilisée dans le calcul de SPF (Radhika et al.,2019).

Longueur d'ondes (nm)	EE× I (normalisé)
290 (nm)	0.0150
295 (nm)	0.0817
300 (nm)	0.2874
305 (nm)	0.3278
310 (nm)	0.1864
315 (nm)	0.0839
320 (nm)	0.0180

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Screening chimique

Une investigation chimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires.

Les tests de détection chimique comprennent la détection des différents composés actifs présentes dans spiruline X_1 et X_2 par des tests des réactions qualitatives, et ces réactions dépendent soit par la formation d'un précipité soit par un changement de couleur au moyen des réactifs spécifiques à chaque famille de les composés actifs. Le tableau 12 et 13 regroupe les résultats des tests phytochimiques réalisés sur les deux échantillons de *Arthrospira platensis* (Annexe 2).

Tableau 12 : Résultats de la détection des composants actifs de spiruline (X_1)

Métabolites secondaires	Extrait aqueux		Extrait méthanolique	Extrait éthérique
	Décocté	Infusé	Macéré	Macéré
Phénols	-	-	+++	/
Flavonoïdes	-	++	-	/
Tanins	++	++	+	/
Alcaloïdes	++	+++	+++	/
Saponosides	+++	/	/	/
Quinones	-	-	-	/
Coumarines	+++	+++	-	/
Sterols et tri Terpène	/	/	/	+++
Sucres réducteurs	+++	/	/	/

Tableau 13 : Résultats de la détection des composants actifs spiruline (X₂).

Métabolites secondaires	Extrait aqueux		Extait méthanolique	Extrait éthérique
	Décocté	Infusé	Macéré	Macéré
Phénols	-	+	-	/
Flavonoïdes	-	-	-	/
Tanins	-	-	+	/
Alcaloïdes	-	+	-	/
Saponosides	+++	/	/	/
Quinones	-	-	-	/
Coumarines	-	+++	-	/
Stérols et tri Terpène	/	/	/	+++
Sucres réducteurs	-	/	/	/

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement Positif ; - : Négatif.

La spiruline X₁ est riche en composés bioactive par rapport aux la spiruline X₂. D'après les résultats obtenus dans les tableaux 12,13 notre étude montre pour l'extrait méthanolique la présence de phénols, tanins et alcaloïdes et l'absence de flavonoïdes et coumarine pour spiruline X₁, et la présence le tanin uniquement pour spiruline X₂. Pour l'extrait aqueux on note la présence de flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, saponosides, coumarine, composants réducteurs et l'absence des phénols. Sels les quinones étaient absentes dans les deux extraits de spiruline X₁ et X₂. Pour l'extrait éthérique on note la présence de stérols et tri terpène.

Cette variabilité entre la spiruline X₁ et X₂ est due à plusieurs facteurs : en une relation directe avec les conditions écologiques rencontrées, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites (de son métabolisme) (Mohammedi, 2013).

a) phénols

Notre étude montre le virage de la couleur au vert dans l'extrait méthanolique et aqueux, ce qui signifie la présence des phénols dans *Arthrospira*. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Shankar Mane et Chakraborty (2019) et Thangaraj et al. (2022). Ces composés jouent des rôles très importants dans les plantes, car ils sont associés à la photosynthèse, la synthèse des protéines, l'allélopathie et l'absorption des nutriments (Wu et

al., 2000). Les composés phénoliques ont des activités antimicrobiennes, antivirales, cytotoxiques, anticancérigènes (**Kessler et al.**, 2003 ; **Prior et Wu**, 2006).

b) Flavonoïdes

Pour le test des Flavonoïdes, le virage de couleur au jaune dans l'extrait aqueux, ce qui signifie la présence des Flavonoïdes, et l'absence dans l'extrait méthanolique. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Shankar Mane et Chakraborty (2019)**, et par plusieurs auteurs notamment, **Abdelaziz (2017)**, **Boutalbi (2014)**, **Loïc et al. (2008)**, **Flaquet et Hurni (2006)** et par **Jourdan (2006)**. Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats de **Ali et Doumandji (2017)** qui a jugé l'absence de ces métabolites dans l'extrait méthanolique. Ces composés jouent des rôles défensifs, leur présence dans la plante peut donc être expliquée comme un type d'antioxydant (**Pincemail et al.**, 1986).

c) Tanins

Pour le test des tanins, le virage de la couleur au brun verdâtre, ce qui signifie la forte existence des tanins condensés (catéchiques), et l'absence des tanins hydrolysables dans l'extrait méthanolique et aqueux. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'**Abdelaziz (2017)**, **Thangaraj et al. (2022)**. Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats de **Ali et Doumandji (2017)** qui a jugé l'absence de ces métabolites dans l'extrait méthanolique, et avec les travaux de **Shankar Mane et Chakraborty (2019)** dans l'extrait aqueux. Ces composés possèdent de forte prospérité antioxydantes, antivirales, antibactériennes, anti-inflammatoire et antioxydants pour d'éventuelles applications thérapeutiques (**Lu L et al.**, 2004 ; **Hemat**, 2007). Ce sont des substances astringentes, ayant la capacité de se combiner avec les protéines des tissus et de les précipiter. Par conséquent, ils sont utilisés comme antiseptiques légers dans le traitement de la diarrhée et pour contrôler les petites hémorragies (**Kokate et al.**, 2008).

d) Alcaloïdes

Les alcaloïdes dont leur présence est confirmée par l'apparition d'un précipité blanc en quantité importante dans l'extrait méthanolique et aqueux, Ceci indique que *Arthrospira platensis* riche en alcaloïdes. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'**Abdelaziz (2017)**, **Dahikar (2018)**, **Ali et Doumandji (2017)** dans l'extrait méthanolique, et avec **Shankar Mane et Chakraborty (2019)** dans l'extrait méthanolique et aqueux. Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats de **Arun et al (2012)** qui a jugé l'absence de ces métabolites dans l'extrait méthanolique, et avec les travaux d'**Abdelaziz (2017)**. Selon

N'Guessan et al. (2009), les alcaloïdes présentent des activités anti-spasmodique, anti-rhumatismal, analgésique et anticancéreuse. Leur effet laxatif est aussi révélé.

e) Saponosides

Le test de saponines indique l'apparition de mousse plus de 1cm de hauteur, confirme la forte présence des saponines dans la spiruline. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Abdelaziz (2017), Shankar Mane et Chakraborty (2019) et Thangaraj et al. (2022). Ces composés bioactifs dotés d'un large éventail de propriétés médicinales, notamment des activités hémolytiques, hypocholestérolémique, anti-cancérigènes, anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydants (Rao and Gurfinkel, 2000; Sparg et al., 2004).

f) Quinones

Ce type de métabolite montre une absence dans l'extrait méthanolique et aqueux. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Abdelaziz (2017). Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats de Thangaraj et al. (2022) et Shankar Mane et Chakraborty (2019) qui a jugé La présence des ces métabolites dans l'extrait méthanolique et aqueux.

g) Coumarines

Notre étude montre le virage de la couleur au jaune dans l'extrait méthanolique et aqueux, ce qui signifie la présence des coumarines dans *Arthrospira*. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Shankar Mane et Chakraborty (2019) dans l'extrait méthanolique, cependant, nos contredisent leurs résultats sur l'absence des coumarines dans l'extrait aqueux.

h) Stérols et Triterpène

Notre étude montre que la présence des stérols et triterpène est révélée par formation d'un anneau rouge brunâtre, ce qui signifie une présence importante de ces composés. Nos résultats sont en accord avec les travaux d'Abdelaziz (2017), Shankar Mane et Chakraborty (2019) et Thangaraj et al. (2022).

i) Composés réducteurs

Notre étude montre que la présence des composés réducteurs est révélée par l'apparition d'une coloration rouge brique intense, ce qui signifie une présence importante de ces composés. Ces résultats montrent une contradiction avec les résultats

d'Abdelaziz (2017) et Shankar Mane et Chakraborty (2019) qui a jugé l'absence de ces métabolites.

De l'étude, il a été observé que l'algue *Arthrospira platensis* possède des composés phytochimiques importants sur le plan médical.

II.2. Rendement des extraits obtenus

Les valeurs obtenues du rendement des différents extraits sont représentées dans le tableau suivant (tableau 14).

Tableau (14) : Rendements des extraits de la souche de *Arthrospira platensis* (X₁ et X₂).

Extraits	Solvants utilisés	Rendement % X ₁	Rendement % X ₂
Extrait brut (PPT)	Méthanol	64	10.5
Flavonoïde	Acétate d'éthyle	72	2.35
Tanins	Acétone/eau / Acétate d'éthyle	10	0.65

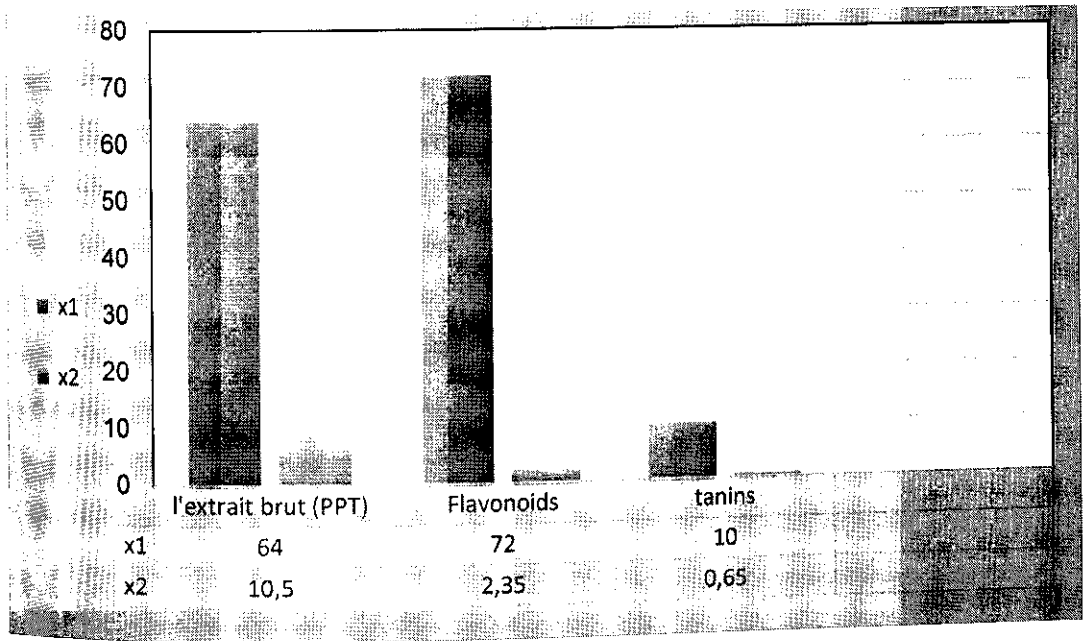


Figure (27) : Rendements des extraits de la spiruline (X₁ et X₂).

Les résultats de rendement des extraits le plus élève ont été enregistrés dans la spiruline X₁, et les valeurs les plus élevées ont été enregistrées dans l'extrait brut au niveau de spiruline X₁, et dans les flavonoïdes au niveau de spiruline X₂.

Les résultats de rendements des extraits de spiruline X₁ sont : l'extrait brut (64%) et celui l'extraits de flavonoïdes (72%) et suivre les tanins (10%).

Les résultats de rendements des extraits de spiruline X₂ sont : l'extrait brut (10,5%) et celui l'extraits de flavonoïdes (2,35%) et suivre les tanins (0,65%).

Cette variabilité est due à plusieurs facteurs : la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou fractionnement et de sa polarité (Mohammedi, 2013), et la nature chimique d'espèce étudiée.

II.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique (AG) par gramme de l'extrait (µg EAG/g Ex), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (figure 28).

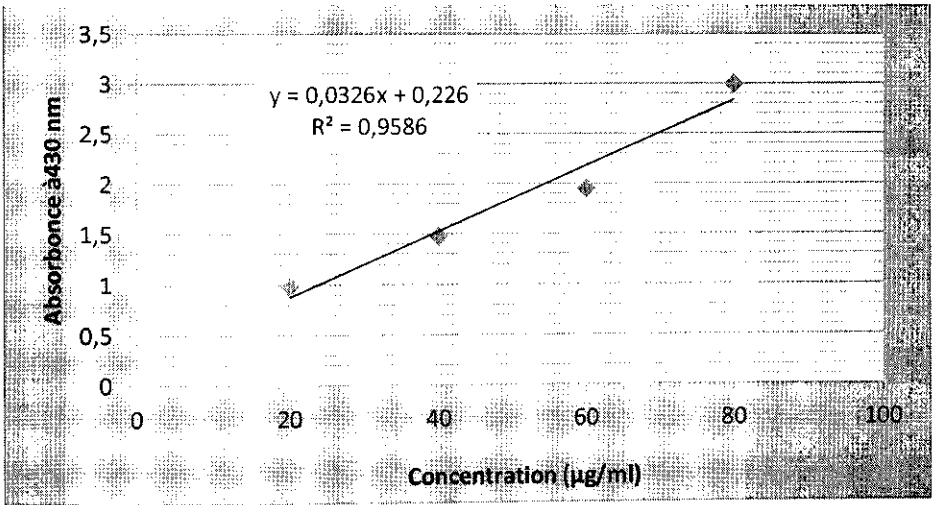


Figure 28 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique décrite par Abdou Bouba et al (2010). La quercitine considérée comme standard a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, dont on a utilisé pour teneur de flavonoïdes qui est exprimé en mg équivalent de quercitine (Qu) par gramme de l'extrait (figure 29).

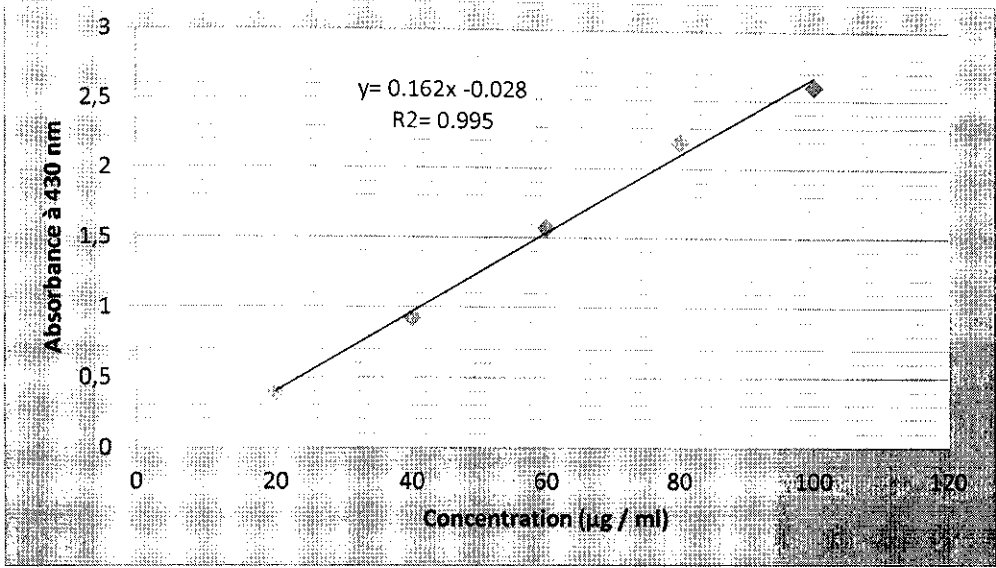


Figure 29 : Courbe d'étalonnage d'acide quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

II.3.2. Dosage des tannins condensés

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par Schofield et al., (2001). Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant la catéchine. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (Mg EC/g E). Le taux des tanins de l'extrait a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 30).

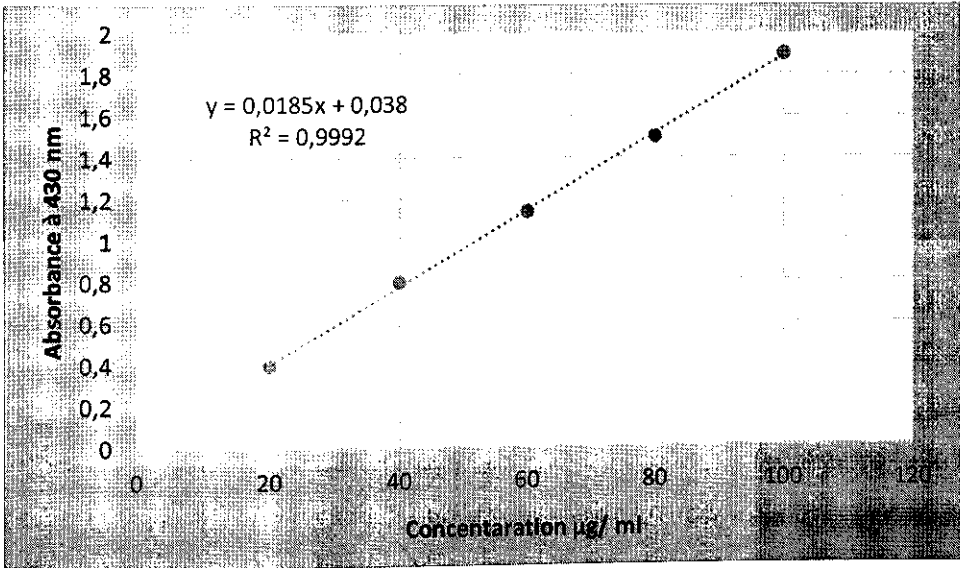


Figure 30 : Courbe d'étalonnage d'acide catéchine pour le dosage des tanins condensés.

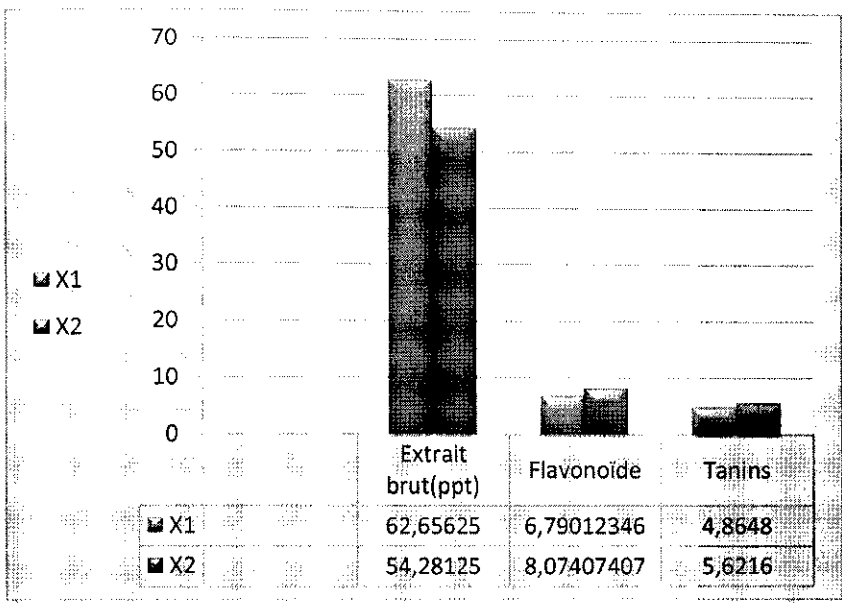


Figure 31 : Histogramme basé sur les dosages des extraits de spiruline X₁ et X₂.

D'après l'histogramme illustré dans la (figure 31) il est clair que la spiruline X₁ contient des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins plus élevés que la spiruline X₂, cette variation peut être liée à la distribution des métabolites secondaires, le stress environnemental, ainsi que le fort ensoleillement, peuvent contribuer à l'augmentation du niveau de la production des composés phénoliques dans certaines plantes (Timmermann et al., 1984).

On observe que les polyphénols totaux contiennent une teneur (62.65625 µg EAG/g Extrait), (54.28125 µg EAG/g Extrait) pour la souche cultivée de deux régions X₁ et X₂ respectivement, ces résultats sont conformes à ceux rapportés par Benahmed el al. (2015) qui ont observé une moyenne de 51.325 µg EAG/g Extrait dans spiruline. La teneur élevée en polyphénols dans l'extrait méthanolique est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (Ghedadba et al., 2014). Selon Harwati (2013) et Li et al. (2007), la composition du milieu a une influence significative sur la teneur totale an polyphénols des microalgues.

En comparant nos résultats à ceux obtenus pour d'autres microalgues et d'autres fruits (les raisins, les pommes, les poires, les cerises et les baies qui contiennent seulement 2-3mg/g de polyphénols). L'*Arthrospira platensis* est une source considérable de polyphénols (Scalbert et al., 2005).

D'après l'histogramme illustré dans la (figure 31) on constate que les valeurs en flavonoïdes issus de spiruline X₁ et X₂ de l'ordre de 6.790 µg AQ/g E, 8.074 µg AQ/gE respectivement sont proches. Ce résultat quantitatif est inférieur à celui trouvé par **Dianursanti et al. (2020)** qui est (12.71 µg EQ/g Extrait). En comparant nos résultats avec les résultats obtenus par **Agustini et al. (2015)** qui a comparé la valeur totale des flavonoïdes pour l'extrait frais et séché de *A. platensis* avec l'extraction fluide et le reflux, lors de l'utilisation de solvants à base d'éthanol, la valeur totale des flavonoïdes dans les résultats d'extraction de notre étude était d'autant plus élevée que les valeurs des échantillons de spiruline fraîche 2,11 mg **quercétine** /g quant à l'échantillon séché il était 6,92 mg **quercétine** /g. Ceci est influencé par les différents types de spiruline utilisés, ainsi que la différence de quantité de solvant utilisé. Avec une plus grande quantité de solvant, la plus grande quantité de flavonoïdes peut être obtenue. Cependant, la quantité optimale de solvant nécessaire est encore inconnue (**Agustini et al. 2015**).

D'après l'histogramme illustré dans la (figure 31) on constate que les valeurs en tanins issus de spiruline X₁ et X₂ de l'ordre de 4.8648µg AC/g E, 5.6216 µg AC/g E respectivement sont proches. Ce résultat quantitatif est supérieur à celui trouvé par **Hetta et al. (2014)** qui est (2.02 mg EC/g Extrait).

II.4. Activités biologiques

II.4.1. Activité antioxydante

La mesure du potentiel antioxydant est réalisé en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels.

Le premier mode, plus ancien, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation. En effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarbonylés...) dans les dérivés des constituants d'origine. Le second relie la quantité de radicaux piégés à celle d'antioxydant utilisé.

On a choisi parmi de nombreux modes d'expression de cette mesure d'utiliser le pourcentage d'inhibition (IC) et/ ou l'équivalence en solution standard obtenu par spectroscopie UV-Visible (**Founas et Karoui, 2016**).

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par des tests : DPPH•, Capacité antioxydante total (CAT).

II.4.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH

Le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, employé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits bruts (PPT), flavonoïdes et des tanins. Dans ce test, on utilise l'acide ascorbique comme standard. L'IC₅₀ de chaque extrait de spiruline X₁ et X₂ est déduit à partir de l'équation de régression correspondant à sa courbe d'étalonnage est exprimée en µg/ml. Les résultats sont représentés graphiquement sur histogramme (figure 32).

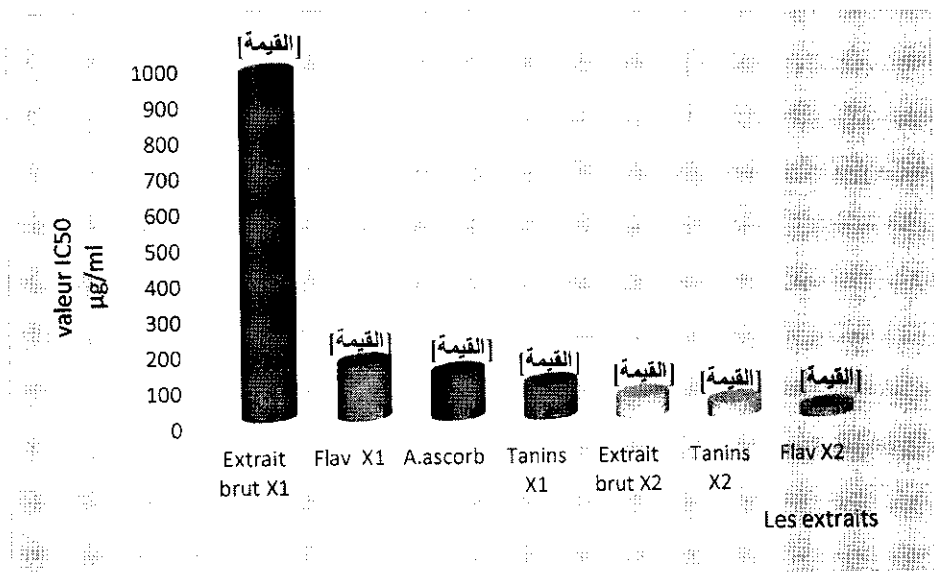


Figure (32) : les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits et acide ascorbique en (µg/ml).

D'après l'histogramme illustré dans la (figure 32), qui représente l'IC₅₀ des différents extraits et le standard (acide ascorbique), nous remarquons que les valeurs des IC₅₀ des extraits sont de l'ordre de 97.9366194 µg/ml, 159.40293 µg/ml et 971.578947 µg/ml, pour les tanins, les flavonoïdes et l'extrait brut de la spiruline X₁ respectivement, et les valeurs des IC₅₀ des extraits sont de l'ordre de 25.645 µg/ml, 42.7992958 µg/ml et 61 µg/ml, pour les flavonoïdes, les tanins et l'extrait brut de la spiruline X₂ respectivement. Un pouvoir anti-radicalaire remarquable pour les flavonoïdes de spiruline X₂ comparé avec les autres. Concernant nos résultats, les extraits des tanins, l'extrait de flavonoïdes et l'extrait brut de la spiruline X₂ ils ont présente un pouvoir anti-radicalaire très puissant par rapport à l'acide Ascorbique (131,374233 µg/ml).

Il est évident que plus la concentration d'extrait est élevée, plus le pourcentage d'inhibition est élevé. Ceci est conforme au résultat selon lequel plus la concentration d'extrait est élevée, plus le pourcentage d'inhibition est élevé (Mardawati et al., 2008). En effet, à forte concentration d'extrait, plus l'antioxydant est présent dans l'échantillon, de sorte que, par

conséquent, le niveau d'inhibition des radicaux libres par l'antioxydant contenu dans l'échantillon est également plus élevé. L'activité antioxydante peut être mesurée par le nombre de couleurs pourpres d'intensité réductrice du DPPH qui est lié à la réduction de la concentration de DPPH (Zuhra et al., 2008). Une telle réduction était due à la réaction entre le DPPH et l'atome d'hydrogène libéré et caractérisée par le changement de la couleur violette au jaune du DPPH (Agustini et al., 2015).

De nombreux chercheurs ont déclaré que la capacité inhibitrice des composés végétaux sur la racine de DPPH a une grande relation avec la structure chimique, et l'activité antioxydante de ces extraits peut être liée à leur teneur en composés phénoliques, et l'efficacité de ces composés phénoliques en tant qu'antioxydants dépend sur le nombre de groupements hydroxyles liés dans le cycle aromatique (Debouba et al., 2012) ainsi que sa teneur en flavonoïdes, où Zheng et al. (2010) ont montré dans une étude l'effet inhibiteur de 13 flavonoïdes sur la racine de DPPH, que le nombre de groupes hydroxyle et leur positionnement jouent un rôle important dans l'effet inhibiteur, car la présence d'un groupe hydroxyle en C3 et la structure du dihydroxyle-ortho donne la meilleure action inhibitrice sur la racine de DPPH (2012. بن سالمه).

II.4.1.2. Test de capacité antioxydante totale (CAT)

L'acide ascorbique a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, La teneur en capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (µg ER/g d'extrait). Le taux de capacité antioxydante totale des extraits ont été obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide ascorbique figure (33).

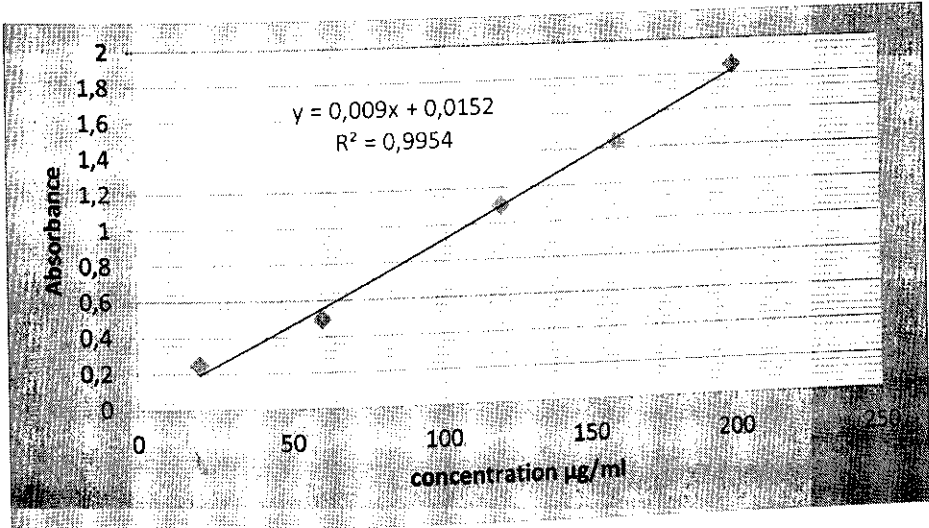


Figure 33 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Le tableau (15) résume les résultats obtenus des teneurs en capacité antioxydante totale des extraits.

Tableau 15 : La Capacité antioxydant totale (CAT) des différents extraits spiruline X₁ X₂.

X ₂			X ₁			Souche
Tanins (TC)	Flavonoïdes (FVT)	Extrait brut (PPT)	Tanins (TC)	Flavonoïdes (FVT)	Extrait brut (PPT)	Extraite
0.0025	0.00775	0.0135	0.00525	0.01975	0.0385	Concentrat d'antioxyda mg/ml
25	77.5	135	52.5	197.5	385	Valeurs o CAT Mg/g

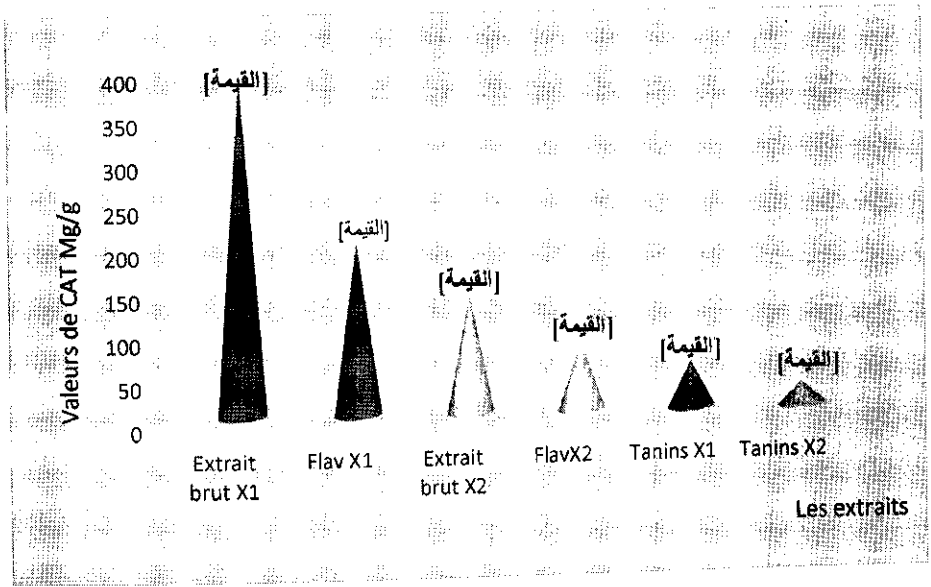


Figure 34 : Histogramme de la capacité antioxydant totale (CAT) des différents extraits de spiruline X₁ et X₂.

Les résultats montrent que tous les extraits possèdent des activités antioxydantes. Il a été constaté que la valeur de l'extrait brut (PPT) de la spiruline cultivée dans la région

Le tableau (15) résume les résultats obtenus des teneurs en capacité antioxydante totale des extraits.

Tableau 15 : La Capacité antioxydant totale (CAT) des différents extraits spiruline X₁ et X₂.

X ₂			X ₁			Souche
Tanins (TC)	Flavonoïdes (FVT)	Extrait brut (PPT)	Tanins (TC)	Flavonoïdes (FVT)	Extrait brut (PPT)	Extraites
0.0025	0.00775	0.0135	0.00525	0.01975	0.0385	Concentration d'antioxydants mg/ml
25	77.5	135	52.5	197.5	385	Valeurs de CAT Mg/g

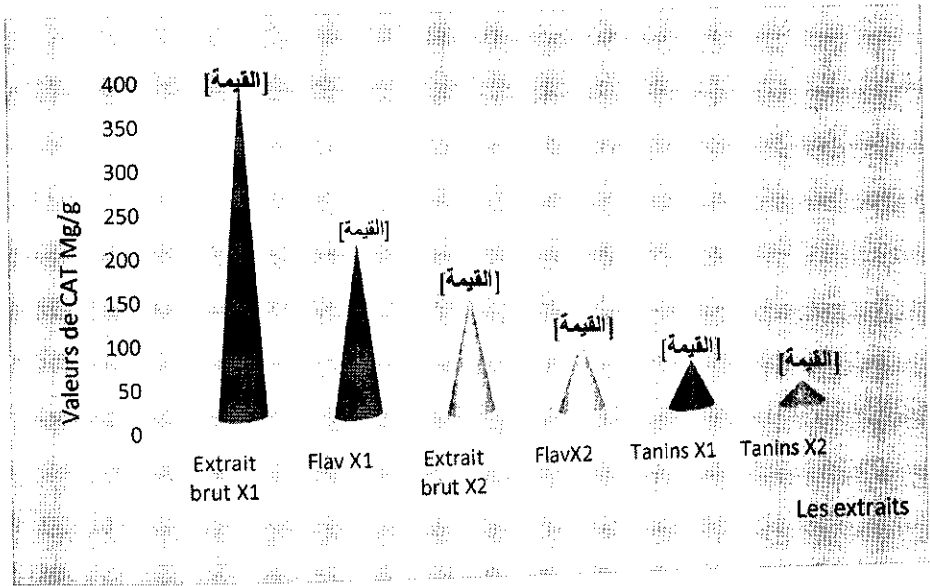


Figure 34 : Histogramme de la capacité antioxydant totale (CAT) des différents extraits de spiruline X₁ et X₂.

Les résultats montrent que tous les extraits possèdent des activités antioxydants. Il a été constaté que la valeur de l'extrait brut (PPT) de la spiruline cultivée dans la région X₁

(385 mg ER/g d'extrait) Supérieure au reste des extraits dans sa capacité antioxydante totale. Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par (2015) الحادة و مكي.

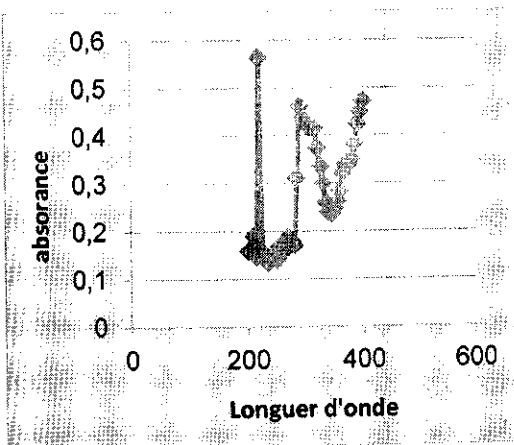
Les résultats de la capacité antioxydant totale des extraits spirulineX₁ sont : l'extrait brut (385 mg ER/g d'extrait) et celui l'extraits de flavonoïdes (197.5 mg ER/g d'extrait) et suive les tanins (52.5 mg ER/g d'extrait).

Les résultats de la capacité antioxydant totale des extraits spiruline X₁ sont : l'extrait brut (135 mg ER/g d'extrait) et celui l'extraits de flavonoïdes (77.5 mg ER/g d'extrait) et suive les tanins (25 mg ER/g d'extrait).

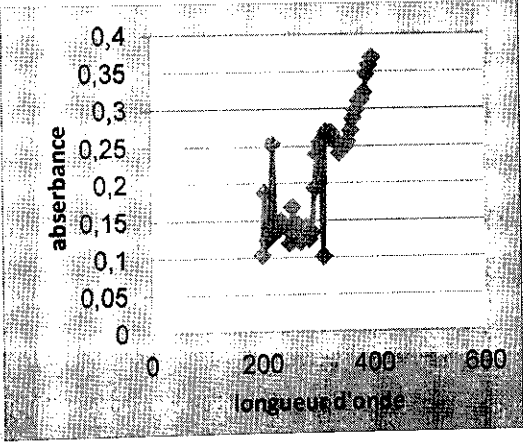
La valeur CAT élevée de l'extrait méthanolique brut indique sa capacité à neutraliser les radicaux libres dans le corps. Plus la valeur TAC d'un aliment est élevés. Plus il contient d'antioxydants

II.4.2. Activité antisolaira

Pour évaluer l'activité antisolaira des extraits bruts (polyphénols totaux), flavonoïdes et des tanins de la deux échantillons X1 et X2 été mesuré le spectre d'absorption UV était obtenu dans la longueur d'onde 200-400. Les résultats sont représentés dans les courbes suivantes :



Courbe PPT 1



Courbe PPT 2

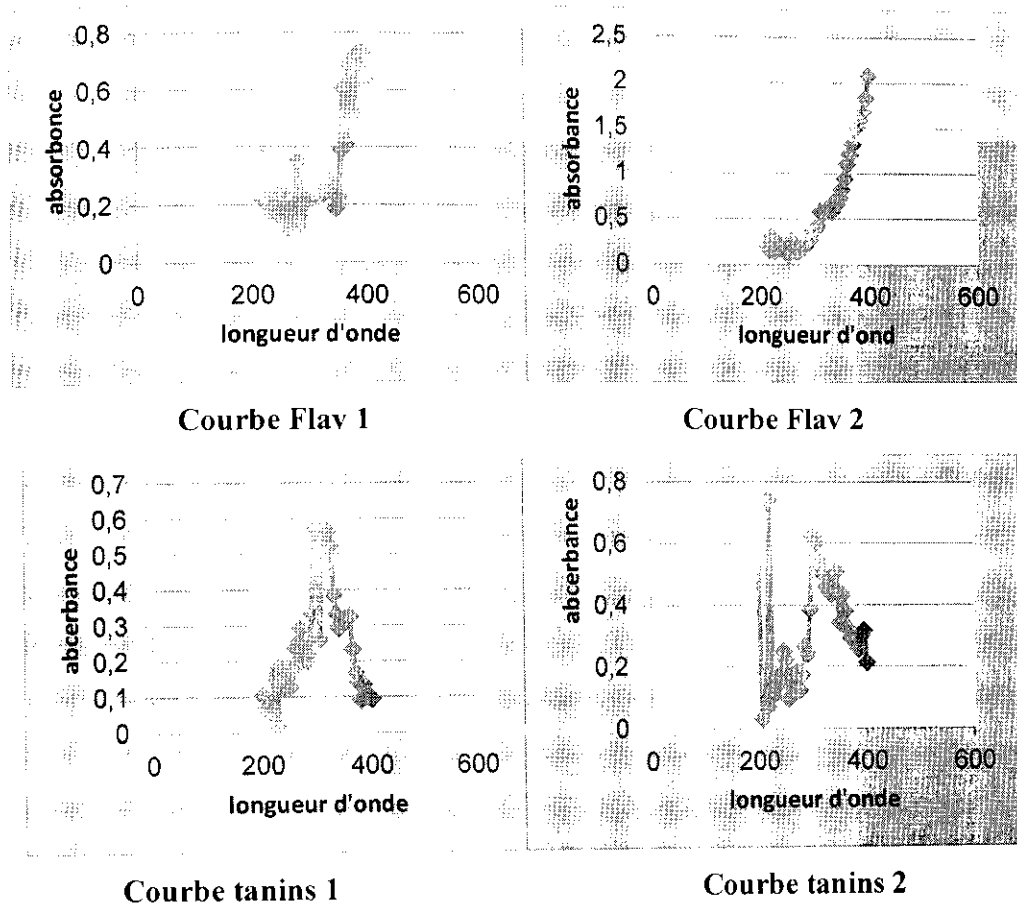


Figure 35 : Suite à l'affichage, lecture des spectres d'absorption des différents extraits de spiruline X_1 et X_2 .

Les résultats d'absorbance pour les deux échantillons ont montré que les flavonoïdes ont obtenu une absorption très élevée et ceux des tanins suivent les extraits bruts.

Où l'on note que le maximum d'absorbance des extraits bruts (X_1) à 400 nm qui a atteint 0.472, et il est inférieur par rapport aux extraits bruts (X_2) qui a atteint une absorbance 0.564 à 220 nm.

Quant aux flavonoïdes (X_1) c'était le maximum d'absorbance à 395 nm qui a atteint 0.729 et les flavonoïdes (X_2) ont montré une absorption très élevée qui a atteint 2.085 à 400 nm.

Quant aux tanins (X_1) le maximum d'absorbance a été atteint 0.574 à 295 nm, il est beaucoup plus faible par rapport aux tanins (X_2) qui a atteint une absorbance 0.742 à 220 nm.

• SPF

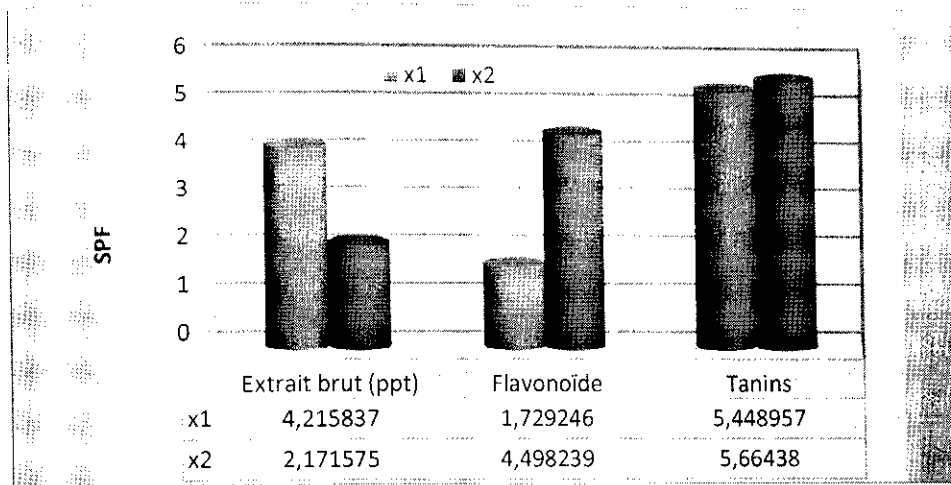


Figure (36) : graphique basé sur le SPF des extraits de *Arthrospira platensis* X₁ et X₂.

Les résultats du SPF pour *Arthrospira platensis* cultivé dans la région X₁ les valeurs les plus élevées ont été enregistrées pour les tanins (5.448957), et celui extraits brut (4.215837) et suivie les flavonoïdes (1.72946).

Les résultats du SPF pour *Arthrospira platensis* cultivé dans la région X₂ les valeurs les plus élevées ont été enregistrées pour les tanins (5.66438), et celui flavonoïdes (4.498239) et suivie les extraits brut (2.171575).

Nous notons également que les valeurs des SPF à échantillons X₂ sont plus élevées à celle des échantillons X₁ dans les tanins et flavonoïdes et inversement pour les extraits bruts.

A travers nos précédentes études qui peuvent la richesse de la spiruline en flavonoïdes, et une étude a indiqué **Gharge et al. (2011)** que les flavonoïdes sont le facteur qui donne à la plante la capacité de se protéger du soleil, car elle est Bien connue pour leurs activités pharmacologiques. Donc *Arthrospira platensis* ils ont la capacité de se protéger du soleil.

Arthrospira platensis identifie ce microorganisme comme une microalgue et une bactérie, a été découverte il y a des siècles, mais il a récemment suscité l'intérêt des scientifiques c'est une source nutritionnelle et thérapeutique naturelle sans égale il est riche en protéines, acides aminés essentiels, acides gras essentiels, complexes vitaminiques multiples et minérale.

Peut-être la caractéristique la plus importante de la *Arthrospira platensis*, qui en a fait un complément alimentaire de précaution et thérapeutique pour de nombreuses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers ou les infections virales, à travers des activités biodisponibles, activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immunomodulatrices et antisolaire. Parce qu'il contient des métabolites secondaires.

Dans un effort pour faire connaissance de la présence de ces matériaux et d'estimer leur quantité et leur efficacité nous faisons screening chimique les échantillons de *Arthrospira* cultivés dans les deux régions (spiruline X₁ et X₂) puis extraits et étudions son activité antioxydante et antisolaire.

Pendant aux résultats obtenus à partir du screening chimique sur les extraits préparés dans milieu aqueux (décoction, infusion) et en milieu organique (macération en milieu méthanolique), nous avons trouvé que spiruline X₁ contient phénols, Flavonoïdes Alcaloïdes, Saponosides, Coumarines et Sucres réducteurs. Spiruline X₂ contient phénols, Flavonoïdes Alcaloïdes, Saponosides, Coumarines et Stérols et triterpène, et absence Sucres réducteurs. Absence Quinones dans les deux.

Après extraction des extraits bruts (extrait méthanolique), flavonoïde (extrait Acétate d'éthyle) et tanin (extrait Acétone/eau). Les résultats ont montré la richesse de la spiruline X₁ par rapport à la spiruline X₂, où il donne spiruline X₁ des valeurs plus élevées pour le rendement et c'était dans l'ordre : flavonoïde (72%) et l'extrait brut (64%) et suivent le tanin (10%).

Quant au rendement en spiruline X₂ il était très faible autant que l'extrait brut (10,5%) et celui des extraits de flavonoïde (2,35%) et suivent le tanin (0,65%).

A partir de ces extraits nous avons estimé la quantité de polyphénols totaux, flavonoïdes et Tanins condensés à l'aide d'une méthode réactive de Folin-Ciocalteu, méthode réactive le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et vanilline en ordre. La quantité de tanins dans les

deux échantillons était la plus élevée est estimé dans spiruline X1 à (62.65625 μg EAG/g) et moins d'entre eux dans la spiruline X2 (54.28125 μg EAG/g Extrait), suivi dans spiruline X1 où flavonoïde (6.790 μg AQ/g E), puis tanin (4.8648 μg AC/g E) mais la spiruline X2 en supérieur dans la quantité estimée où flavonoïde X 1 (8.074 μg AQ/gE) et de tanin (4.8648 μg AC/g E).

Dans un l'effet pour faire déterminer l'effet des extraits nous avons étudié les l'activité antioxydant en utilisant test des radicaux libres DPPH afin de déterminer la capacité des l'extraits de l'inhibition des radicaux libres, et travers la valeur de C50 où les résultats ont montré que la flavonoïde spiruline X2(25.645) a une activité très élevée viennent ensuite les tanins (42.7992958 $\mu\text{g}/\text{ml}$) et l'extrait brut(61 $\mu\text{g}/\text{ml}$), quant à la spiruline X1 elle a une faible activité surtout lorsque l'extrait brut (971.578947 $\mu\text{g}/\text{ml}$) suivis de flavonoïde (159.40293 $\mu\text{g}/\text{ml}$) puis tanins (97.9366194 $\mu\text{g}/\text{ml}$), quant à l'acide Ascorbique il a été estimé (131.374233 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

De là nous constatons que la capacité de l'inhibition des radicaux libres dépend non seulement du contenu mais également de la qualité de ces composés

Quant au deuxième test capacité antioxydant totale des extraits, Les résultats montrent que tous les extraits possèdent des activités antioxydants Il a été constaté que la valeur de l'extrait brut Supérieure au reste des extraits où dans de la spiruline X₁(385mg ER/g d'extrait) et celui l'extraits de flavonoïdes (197.5mg ER/g d'extrait) et suivis l'extrait brut (135mg ER/g d'extrait) l'extrait brut (135mg ER/g d'extrait) et celui l'extraits de flavonoïdes (77.5mg ER/g d'extrait) de spiruline X2, tanins de spiruline X₁ (52.5mg ER/g d'extrait), puis tanins de spiruline X2 (25mg ER/g d'extrait).

La deuxième activité est antisolaire nous avons adopté sur d'absorption et valeur SPF.

Les résultats d'absorbance pour les deux échantillons ont montré que les flavonoïdes ont obtenir absorption très élevée et celui tanins puis suivre les extraits bruts.

Les résultats du SPF pour spiruline X₁ les valeurs les plus élevées ont été enregistrées pour les tanins (5.448957), et celui extrait brut (4.215837) et suivre les flavonoïde (1.72946). Quant au spiruline X2 les tanins (5.66438), et celui flavonoïde (4.498239) et suivre l'extrait brut (2.171575). Et elle était spiruline X2 plus efficace antisolaire.

Des études ont prouvé que capacité *Arthrospira platensis* de se protéger du soleil est due à la présence flavonoïdes.

Enfin, et par extrapolation des résultats obtenus la *Arthrospira platensis* se qualifie comme plante nutritionnelle et thérapeutique, si l'on recommande d'abord de préserver leur milieu naturel, et d'autre part nous préconisons à court terme l'étude analytique quantitative et qualitative des composés actifs qu'il contient en identifiant leur composition partielle et en traçant les voies de leur formation.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Abd El-Baky H.H. and El-Baroty G.S. (2020).** Spirulina maxima L-asparaginase: Immobilization, Antiviral and Antiproliferation Activities. Recent Patents on Biotechnology, 14(2), 154– 163.
<https://doi.org/10.2174/1872208313666191114151344>
- **Abdelaziz S. (2017).** Screening phytochimique de la spiruline «Spirulina platensis» et l'étude de son activité antimicrobienne. Mémoire Master en Biologie, université Tahri Mohamed.
- **Abdou Bouba A., Njintang Y.N., Scher J. And Mbofung C.M.F. (2010).** Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty Cameroonian spices; Agric. Biol. J. N. Am.vol.1(3):213-224.
- **Agustini T.W., Suzery M., Sutrisnanto D., Ma'ruf W. F. and Hadiyanto. (2015).** Comparative Study of Bioactive Substances Extracted from Fresh and Dried Spirulina sp. Procedia Environmental Sciences 23;282 – 289.
- **Akhlef G.Y. (2009),** « Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thuymus VulgarisL ». Et Laurus Nobilis, Mémoire de magister en biochimie appliqué.
- **Akiyama H., Fujii K., Yamasaki O., Oono T. and Iwatsuki K. (2001).** Antibacterial action of several tannins against staphylococcus aureus. Journal of antimicrobial chemother; 48: 487- 491.
- **Ali I.H. And Doumandji A. (2017).** Comparative phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activities of the cyanobacterium Spirulina platensis and the green alga Chlorella pyrenoidosa: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie, (39), 41-49.
- **Ali Md. Shawkat.** "Evaluation of the effects of feed attractants (Spirulina and ekangi) on growth performance, feed utilization and body composition of fingerlings of stinging catfish Heteropneustes fossilis", 2014.

- **Ali, I. H., & Doumandji, A. (2017).** Comparative phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, (39), 41-49.
- **Annapurna V., Shah N., Bhaskaram P., Bamji M.S. and Reddy V. (1991).** Bioavailability of spirulina carotenes in preschool children. *J Clin Biochem Nutr.*10:145-151.
- **Aoki T., Akashi T. and Ayabe S. (2000).** Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *J Plant Res* 113, 475–488.
- **Aouir A. (2017).** Extraction des composés bioactifs de la spiruline par le champ électrique pulsé. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en sciences agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomiques-El-Harrach-Alger
- **Arun N., Gupta S. And Singh D.P. (2012).** Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgae *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(12), 4866.
- **Arun, N., Gupta, S., & Singh, D. P. (2012).** Antimicrobial and antioxidant property of commonly found microalgae *Spirulina platensis*, *Nostoc muscorum* and *Chlorella pyrenoidosa* against some pathogenic bacteria and fungi. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(12), 4866.
- **Ayyappan S. (1992).** Potential of *Spirulina* as a feed supplement for carp fry. In: Seshadri CV, Jeeji Bai N. *Spirulina Ecology, Taxonomy, Technology, and Applications*. National Symposium, Murugappa Chettiar Research Centre.171-2.
- **Azzi R. (2013) - Contribution A L'étude De Plantes Médicinales Utilisées Dans Le traitement Traditionnel Du Diabète Sucré Dans L'ouest Algérien : Enquête Ethno pharmacologique ; Analyse Pharmaco-Toxicologique De Figueire (Ficus carica) Et De Coloquinte (Citrullus Colocynthis) Chez Le Rat Wister .Thèse Doctorat En Biologie , Université Abou Bekr Belkaid .Tlemcen 48-50p.**

- **Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99: 191–203.
- **Bassene E. (2012).** Initiation à la Recherche sur les Substances Naturelles Extraction, Analyse et Essais Biologiques. Presse Universitaire de Dakar : Dakar ;141p150p.
- **Becker EW. (2007).** Microalgae as a source of protein. *Biotenol Adv* 25 (2):207–210
- **Becker EW., Jakober B., Luft D. And Schmulling RM. (1986).** Clinical and biochemical evaluations of Spirulina with regard to its application in the treatment of obesity. *Inst. Chem. Pfan. Nutrition Reports International*. 33(4):565. ISSN: 0029-6635.
- **Bekkara F., Jay, M. And Viricel M.R. (1998).** Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of tow Vicia faba cvs differing in their seedtannin content, and study of their seed and root phenolic exudation, *Journal Plant and Soil*.vol. 203: 27-36.
- **Bellebcir L. (2008).** Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs dew biodiversité chez les céréales ; Mémoire de magister; option Biodiversité et production végétale. Université Mentouri de Constantine. 69 p.
- **Beretz A. and Cazenave J.P. (1988).** “The effect of flavonoids on bloodvessel wall interactions,” in *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II: Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*, V. Cody, E. Middleton, J. B. Harborne, and A. Beretz, Eds., pp. 187– 200, Alan R. Liss, New York, NY, USA.
- **Bermejo P., Pinero E., Villar A M. (2008).** Iron-chelating ability and antioxidant properties of phycocyanin isolated from a protein extract of Spirulina platensis. *Food Chem* ;110: 436-45.
- **Bessas A., Benmoussa L. et Kerarma M. (2007).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire pour l’obtention du diplôme d’ingénieur d’état en biologie.
- **Bezerra R.P. (2006).** Influência do tempo de alimentação e da intensidade luminosa no cultivo de Spirulina platensis sob alimentação com cloreto de amônio.p.153. Dissertação de mestrado, USP, São Paulo.

- **Bhat VB. And Madyastha KM. (2001).** Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 285:262–266. DOI: 10.1006/ bbre.2001.5195u.
- **Blois M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181.p 1199-1200.
- **Boone D. R., Castenholz R. W. (2001).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. P721.
- **BOROWITZKA M. (1998).** Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *J of Biotech* 70: 313-321.
- **Boutalbi S. (2014).** Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospira platensis*). Mémoire MASTER ACADEMIQUE, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologique.
- **Boutlelis D.J. (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse du doctorat. Université de Badji Mokhtar de Annaba,
- **Brillouet J.M., Romieu C., Schoefs B., Solymosi K., Cheynier V., Fulcrand H., Verdeil J.L. and Conejero G. (2013).** Les Tanins. *Annals of botany*, 112(6): 1003-1014.
- **Britz P.J.** The suitability of selected protein sources for inclusion in formulated diets for the South African abalone, *Haliotis midae*. *Aquaculture*. 1996; 140:63-73.
- **Brown J.E., Khodr H., Hider R.C. and Rice-Evans C. (1998).** "Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions: implications for their antioxidant properties," *Biochemical Journal*, vol. 330, no. 3, pp. 1173–1178.
- **Bruneton J. (1999).** *Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier.
- **Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In : *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris. PP 198-260.
- **Bruneton J. (2009).** *Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicibnales*, 4^e éd, revue et augmentée, paris, Tec & Doc-Editions médicales internationales. P128.
- **Cao G., Sofic E. and Prior R.L. (1997).** "Antioxidant and prooxidant behavior

of flavonoids: structure-activity relationships,” *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 22, no. 5, pp. 749–760.

- **Carvalho Jr.R.N., Moura L.S., Rosa P.T.V. And Meireles M.A.A. (2005).** Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract’s global yield, composition, and antioxidant activity, *J. of Supercritical Fluids* 35 (2005), 197-204.
- **Castellucci F. (2010).** Overall determination of phenolic compound in spirituous beverage of vitivinicultural origin without added caramel.vol.1: 1-4.
- **Chang C.C., Yang M.H., Wen H.M. And Chern J.C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*.vol.10 (3):178-182.
- **Charpy L., Langlade M-J, Alliod R. (2008).** La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Disponible sur http://www.plancton-du-monde.org/fileadmin/documents/IRD_spiruline_atout_developpement_afrique.pdf.
- **Cheng HY., Lin CC. and Lin TC. (2002).** Antiherpes simplex virus type 2 activity of casuarinin from the bark of *Terminalia arjuna* Linn. *Antiviral Research*; 55:447- 455.
- **Chisti Y. (2020).** Microalgae biotechnology: A brief introduction. *Handbook of Microalgae-Based Processes and Products*.P9.
- **Ciferri O. (1983).** Spirulina, the Edible Microorganism. *Microbiol. Rev.*, v. 47, No. 4p. 551-578.
- **Ciferri O. et Tiboni O. (1985).** The biochemistry and industrial potential of spirulina. *Ann. Rev. Microbiol.*, v.. 39, p.503-26.
- **Clifford M.N. (1999).** Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- **Corvazier E. and Maclouf J. (1985).** “Interference of some flavonoids and non-steroidal anti-inflammatory drugs with oxidative metabolism of arachidonic acid by human platelets and neutrophils,” *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 835, no. 2, pp. 315– 321.
- **Cowan M.M. (1999).** Plant product antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4). P: 564-582.
- **Coxey M. et Jesus. (2004).** A Algas – Aspectos gerais, aplicações tecnológicas e uso comercial. Universidade de Algarve.

- **Cumella J.C., Faden H. and Middleton F. (1987).** "Selective activity of plant flavonoids on neutrophil chemiluminescence (CL)," *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 77, article 131.
- **Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005).** "Antimicrobial activity of flavonoids," *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 26, no. 5, pp. 343-356.
- **Cuzon G, Santos RD, Hew M, Poullaouec G. (1981).** Use of *Spirulina* in Shrimp (*Penaeus japonicus*) diet. *JWorld Mariculture Society*. 12(2):282-91.
- **D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4): 348-361.
- **Dahikar, SB. (2018).** Phytochemical screening and antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina* species isolated from Lonar Lake. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences india*. 3(2), 43-47.
- **Dahikar, SB. (2018).** Phytochemical screening and antibacterial activity of crude extracts of *Spirulina* species isolated from Lonar Lake. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences india*. 3(2), 43-47.
- **Danesi E., Navacchi M., Takeuchi K., Frata M., Carlos J. and Carvalho M. (2010).** Application of *Spirulina Platensis* in Protein Enrichment of Manico Based Bakery Products. *J Biotechnol*. 150 :31.
- **Dargent L. (2009).** *Spirulina* plaensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. P175.
- **De Clerck, O., M. D. Guiry, F. Leliaert, Y. Samyn, and H. Verbruggen. (2013).** *Algal Taxonomy: A Road to Nowhere?* *J Phycol* 49: 215-225.
- **Debouba M., Balti R., Hwiwi S. And Zouari S. (2012)-**Antioxidant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album*. *International Journal of Phytomedicine*.4(3): 399-402.
- **Delpeuch F., Joseph A.et Cavelier C. (1976).** Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du KANEM (TCHAD). *Ann. Nutr. Alim.*, 29, 497-516.

- **Demule MCZ., Decaire GZ., Decano MS. (1996).** Bioactive substances from *Spirulina platensis* (cyanobacteria). *Int J Exp Bot*; 58: 93-6.
- **Deng R and Chow T.-J. (2010).** Hypolipidemic, Antioxidant and Antiinflammatory Activities of Microalgae *Spirulina*. *Cardiovasc. Ther.* 28, 33-45.
- **Dianursanti., Nugroho P. and Bagus Prakasa M. (2015).** Comparison of maceration and soxhletation method for flavonoid production from *Spirulina platensis* as a sunscreen's raw material. *AIP Conf. Proc.* 2230, 020006-1–020006-6; <https://doi.org/10.1063/5.0002806>
- **Dixon R., Ferreira D. (2002).** Molecules of interest: genistein. *Phytochemistry*60, 205–211.
- **Druzyńska B., Stepnińska A. et Wołoszak R. (2007).** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.* 6: 27-36.
- **Dziri S., Hassen I., Fatnassi S., Mrabet Y., Casabianca H., Hanchi B. And Hosni K. (2012).** Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of Functional Foods.* 4 : 423- 432.
- **Erlund I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability and epidemiology, *Nutr Res.* 24: 851-74.
- **Evans W.C., Evans D., et Trease G. E. (2009)** Trease and Evans pharmacognosy. Edinburgh ; New York: Saunders /Elsevier.
- **Falquet J. et Hurni J-P. (2006).** Spiruline: aspects nutritionnels. *Antenna Technologies.*
- **Forkmann G., Heller W. (1999).** Biosynthesis of flavonoids. In *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Edited by Sankawa U. Amsterdam, *Elsevier*. 713-748.
- **Founas L. et Karoui R. (2016).** Etude de l'effet des méthodes d'extraction sur la composition phytochimique et l'activité antioxydante d'extrait d'*Abelmoschus esculentus*. Mémoire Master en Technologie, université Echahid Hamma Lakhdar El Oued.

- **Fox R. D. (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. Edisud: 246. ISBN 2-7449- 0100-8.
- **Funatogawa K., Hayashi S., Shimomura H., Yoshida T., Hatano T., Ito H. and Hirai Y. (2004).** Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol. Immunol*; 48(4):251- 261.
- **G"uroy B., Sahin 'I., Manto"glu S. and Kayali S. (2012).** Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid *Pseudotropheus acei*". *Aquaculture International*. 20(5):869-78.
- **Gad A., Khadrawy YA., El-Nekeety AA., Mohamad ShR., Hassan NS., Abdel-Wahhab MA. (2010).** Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and Spirulina in rats. *Nutrition*; 1-8.
- **Garazd M., Garazd Y. and Khilya V. (2003).** Neoflavones. 1. Natural distribution and spectral and biological properties. *Chem Nat Comp* 39,54–121.
- **Geitler L. (1932).** Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. Kolkwits R. (Eds.) Leipzig Germany: Akademische Verlagsgesellschaft. 14.
- **Gerdin B. and Srenso E. (1983).** "Inhibitory effect of the flavonoid on increased microvascular permeability induced by various agents in rat skin," *International Journal of Microcirculation, Clinical and Experimental*, vol. 2, no. 1, pp. 39–46.
- **Gharge V., Tulashiram L., Hadpad S. (2011)** Anti-solar study of ethanolic extraction of leaves classia fistula. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*. 2018; 8(5-s):232-234.
- **Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi M. C., Aberkane H., Bousselsela S. M. et Oued- Moukhtar. (2015).** Polyphénols totaux, activités antioxydant et antimicrobienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*.vol.13. pp.118 – 129.
- **Ghesterm A., Seguin E., Paris, M. et Orecchioni, A.M. (2001).** Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 275p.
- **Girardin-Andréani C. (2005).** Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytothérapie*; 4: p. 158-161.

- **Giusti M., Wrolstad R. (2003).** Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem Eng J* 14, 217–225.
- **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.
- **Guignard J.L. (2000).** Les composés aromatiques In : *Biochimie végétal*. Ed : Dunod. pp : 161-217.
- **Guingard J. (1996).** *Biochimie végétal e*, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR.
- **Guiry, M. D. (2012).** How Many Species of Algae Are There? *J Phycol* 48: 1057-1063.
- **Gutiérrez-salmeán G., Fabila-Castillo L., Chamorro-Cevallos G. (2015).** Nutritional and toxicological aspects of Spirulina (Arthrospira), *Nutricion Hospitalaria*, N 32(1). PP 34-40.
- **Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C., Hasan M.R. (2008).** A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*. No. 1034. Rome, FAO.
- **Hacène H.,Brahimi R., Benaicha S Ouahrani E.K., Chebhouni N. Et Siga A. (2001).** Essais de Production de Protéines d'organismes Unicellulaires (P.O.U.) par des Souches de Spirulina. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 65-68.
- **Hajati H, Zaghari M. (2019).** *Spirulina Platensis in Poultry Nutrition* ISBN (10): 1-5275-2128-1 ISBN (13): 978-1-5275-2128-5
- **Halliwell B. and Gutteridge J.M.C. (1998).** *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University Press, Oxford, UK.
- **Harborne, J.B. (1980).** *Plant Phenolics: Encyclopedia of Plant Physiology*. New series. Vol. (8): 329-402.
- **Harwati T.U. (2013).** Cultivation of microalgae: lipid production, evaluation of antioxidant capacity and modeling of growth and lipid production. PhD Thesis, Faculty of Life Sciences at the Technical University Carolo - Wilhelmina at Brunswick. P130.

- **He J., Yu Y., Chen X., Sun W., Fang F., Li N. And Zheng J. (2010).** Research progress on drug metabolism of flavonoids. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 35.2794 - 2789.
- **He Z., Xia W. et Chen J. (2008).** Isolation and structure elucidation of phénolics compounds in Chinese olive (*Cnarium album* L.) fruit. *European Food Research and Technology.* 226: 1191-1196.
- **Hemat RAS (2007).** Fat and Muscle Dysfunction. In: Hemat, R.A.S. (Eds.), *Andropathy.* Dublin, Ireland: Urotext;. Pp. 83-85.
- **Henrikson R. (1994).** Microalgae *Spirulina*, superalimento del futuro. Ronore Enterprises. 2^a ed., Ediciones Urano, Barcelona, Espana, pp: 222.
- **Hetta M., Mahmoud R., El-Senousy W., Ibrahim M., El-Tawee G. And Ali G. (2014).** Antiviral and antimicrobial activities of spirulina platensis. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 3, Issue 6, p. 35; www.wjpps.com
- **Hosoyamada Y., Takai Y. And Toshimitsu K. (1991).** Effect of water soluble and insoluble fractions of *Spirulina* over serum lipids and glucose resistance of rats. *Journal of Japan Society of Nutrition and Food Science.* 44:273–277. DOI: <http://doi.org/10.4327/jsnfs.44.273>.
- <http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2061.pdf>
- **Hug C. and Von der Weid D. (2011).** *Spirulina* in the fight against malnutrition. Geneva (Switzerland) 15 Foundation Antenna Technologies. Rue de Neuchâte. No.: 29-1201. 16. Available from: <http://www.antenna.ch/medias/Spirulina-Assessment-and-Prospects.pdf> (Accessed Feb 2011).
- **Hunter T. (1995).** “Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling,” *Cell*, vol. 80, no. 2, pp. 225–236.
- **Ibrahim S.S., Abdallah E., Abdelkareem M.S. (1998).** *Plantes médicinales aromatiques et toxiques du monde arabe*, EdOADA, Egypte.
- **Iwashina T. (2013).** Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales (Review). *Bull Natl Mus Nat Sci*39,25–51.
- **Jarisoa. (2005).** Adaptation de la spirulinede sud de Madagascar à la culture en eau de mer.

- **Jourdan JP. (2006).** Cultivez votre Spiruline, Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline. Edt. Antenna Technologie :
- **Juarez-Oropeza MA., Mascher D., Torres-Duran PV., Farias JM. And Paredes-Carbajal MC. (2009).** Effects of Spirulina on vascular reactivity. Journal of Medicinal Food. 12(1):15–20. DOI: 10.1089/jmf.2007.0713.
- **Karaali, A., Boyacioğlu, D., Günez, G. and Özçelik, B. (2004).** Flavonoids in fruit and vegetables: their impact on food quality, nutrition and health–STREP or CA. European commission's the 6th framework programme for research. Istanbul technical university. Turkey.
- **Kelly E.H., Anthony R.T. and Dennis J.B. (2002).** "Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships," Journal of Nutritional Biochemistry, vol. 13, no. 10, pp. 572–584.
- **Kessler M., Ubeaud G., Jung L. (2003).** Anti- and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 55: 131-142.
- **Khanbabae, K. and Ree, T.R. (2001).** Tannins: Classification and Definition. Journal of Royal Society of Chemistry. Vol. (18): 641-649.
- **Khatibi O., Hanine H., Ellothmani D., And Hasib A. (2011).** Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan Prickly pear fruits (*Opuntia ficus indica*), Arabian Journal of Chemistry. Vol.9(1): 278-281.
- **Khatun S., Hossain M.A., Akter T., Banu and Kawser A. Q. M. R. (2019).** Replacement of Sodium Bicarbonate and Micronutrients in Kosaric Medium with Banana Leaf Ash Extract for Culture of *Spirulina Platensis*. Ann. Bangladesh Agric. 23 (1): 37-47.
- **Kokate KK, Purohit AP, Gokhale SB. (2008).** Pharmacognosy, Forty second edition, Vallabh Prakashan, India. Pp. 13-44.
- **Kolodziej H., Kiderlen AF. (2005).** Antileishmanial activity and immune modulatory effects of tannins and related compounds on *Leishmania* parasitised RAW 264.7 cells. Phytochemistry; 66:2056–2071.
- **Kostic MM., Ognjanovic B., Dimitrijevic S., Zikic RV., Stajn A., Rosic GL. And Zivkovic RV. (1993).** Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effects. European Journal of Haematology. 51(2):86–92. DOI: 10.1111/j.1600-0609.1993.tb01598. x.

- **Kulpys J., Paulauskas E., Pilipavičius V. and Stankevičius R. (2009).** Influence of cyanobacteria *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomass additive towards the body condition of lactation cows and biochemical milk indexes. *Agron Res.*7:823-35.
- **Kumar S. and Pandey A.K. (2013).** Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*.
- **Lendvai B., Zelles T., Rozsa B. And Vizi ES. (2002).** Vinca alkaloid exchanges morphological dynamics of dentric neocortical layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*, 59 (4):257-260.
- **Li DM. and Qi YZ. (1997).** *Spirulina* industry in China: present status and future prospects. *Journal of Applied Phycology*, 9: 25-28.
- **Li S.Q., Zhang Q.H., Tony Z.J., Turek E.J. and Lau M.H. (2007).** Elimination of *Lactobacillus plantarum* and achievement of shelf stable model salad dressing by pilot scale pulsed electric fields combined with mild heat. *Innovative Food Science & Emerging Technologie*, vol. 6, p. 125-133.
- **Lin LU., Shu- wen L., Shi- bo J. and Shu- guang W. (2004).** Tannin inhibits HIV- 1 entry by targeting gp 41. *Acta Pharmacol Sin*; 25(2):213- 218.
- **Linuma M., Tanaka T., Hamada K., Mizuno M., Asai F., Reher G. and Kraus L. (1987).** Revised structure of neoflavone in *Coutarea hexandra*. *Phytochemistry*26, 3096–3097.
- **Lourenço S. O. (2006).** Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. 1 ed. São Paulo : Rima. 606 p.
- **Lu L, Liu SW, Jiang SB, Wu SG. (2004).** Tannin inhibits HIV-1 entry by targeting gp41. *Acta Pharmacologica Sinica*. 25(2): 213-218.
- **Lutge U., Kluge M., Bauer G. (2002).** Botanique. 3éne édition, Traité fondamental. Tech et Doc Lavoisier, Paris, 211p.
- **M'hamed H. (2010).** Algérie : La spiruline, une algue en quête d'une mise en valeur.
- **Maarouf A.M. (2002).** Rédécouverte des plantes médicinales.Expérience du Qatar.
- **Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P., (2006).** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. PP :1-28.

- **Mala R., Sarojini M., Saravanababu S., Umadevi G. (2009).** Screening for antimicrobial activity of crude extracts of *Spirulina platensis*. *J Cell Tissue Res*; 9: 1951-5.
- **Malešev D., Kuntić V. (2007).** Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the serbian chemica society*. 72 (10): 921-939.
- **Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. and Jiménez L. (2004).** Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*79, 727–747.
- **Mani U., Sadliwala A., Iyer U. And Parikh P. (2000).** The effect of *Spirulina* supplementation on blood haemoglobin levels of anaemic adult girls. *Journal of Food Science and Technology*. 37:642–644. ISSN 0022-1155.
- **Manoj G., Venkataraman LV., Srinivas L. (1992).** In *ETTA National Symposium on Spirulina*, (Sheshadri CV, Jeejibai N, Eds.), MCRC Publishers, pp. 148-54.
- **Manthey J.A. (2000).** “Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation,” *Microcirculation*, vol. 7, no. 1, pp. S29–S34.
- **Mardawati, E., E.F. Filianty dan H. Marta. (2008).** Kajian aktivitas antioksidan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) dalam rangka pemanfaatan limbah kulit manggis di Kecamatan Puspahiang, Kab. Tasikmalaya, Universitas Padjadjaran, Bandung.
- **Marfak A. (2003).** Radiolyse Gamma des Flavonoïdes : Etude de Leur Réactivité avec Les radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGES. P 187.
- **Markham K.R. (1982).** *The Technique of Flavonoids Identification*, Academic press, London, New York.
- **Martin S. et Andriantsitohaina R. (2002).** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de Cardiologie et d'Angiologie*. 51 : 304-315.
- **Marty F. and Busson F. (1970).** Données cytologiques et systématiques sur *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. T *Spirulina Geitleri* J.De Toni (Cyanophyceae-Oscillatoriaceae), *C.R.Acad. Sc. Paris*, 270, 786.
- **Masojidek J et Torzillo G. (2008).** *Mass Cultivation of Freshwater Microalgae*. Ecological Engineering.

- **Mata, T. M., Martins A. A., and Caetano N. S. (2010).** Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew Sust Energ Rev* 14: 217-232.
- **Mathew B., Sankaranarayanan R Nair PP., Varghese C., Somanathan T. And Amma BP. (1995).** Evaluation of chemoprevention of oral cancer with *Spirulina fusiformis*. *Nutr Cancer*, 24 (2): 197-202.
- **Matkowski A. And Piotrowska P. (2006).** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*.vol. 77(5): 346-353.
- **Matthies A., Clavel T., Gütschow M., Engst W., Haller D., Blaut M. and Braune A. (2008).** Conversion of daidzein and genistein by an anaerobic bacterium newly isolated from the mouse intestine. *Appl Environ Microbiol* 74, 4847–4852.
- **Mbaebie B., Edeoga H. And Afolayan A. (2012).** Phytochemical analysis and antioxidants activities of aqueous stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.vol.2 (2): 118-124.
- **Mei Li D, Zao Qi Y. (1997).** *Spirulina* industry in China:Present Status and future prospects. *J Appl Phycol* 9: 25-8.
- **Mendiola JA., Jaime L., Santoyo S., Reglero G., Cifuentes A., Ibanez E. and Senorans F.J. (2007).** Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food chem*; 102: 1357-67.
- **Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse Docteur de l'université d'Orléans. Université D'ORLÉANS. 286p.
- **Middleton E. and Kandaswami C. (1992).** "Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions," *Biochemical Pharmacology*, vol. 43, no. 6, pp. 1167–1179.
- **Mishra A., Kumar S. and Pandey A. K. (2013).** "Scientific validation of the medicinal efficacy of *Tinospora cordifolia*," *The Scientific World Journal*, vol. 2013, Article ID 292934.
- **Mishra A., Kumar S., Bhargava A., Sharma B. and Pandey A. K. (2011).** "Studies on in vitro antioxidant and antistaphylococcal activities of some important medicinal plants," *Cellular and Molecular Biology*, vol. 57, no. 1, pp.

16-25.

- **Mishra A., Sharma A.K., Kumar S., Saxena A.K., and Pandey A.K. (2013).** "Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant and anticancer activities," BioMed Research International, vol. 2013, Article ID 915436, p10.
- **Mishra A.K., Mishra A., Kehri H.K., Sharma B. and Pandey A. K. (2009).** "Inhibitory activity of Indian spice plant Cinnamomum zeylanicum extracts against Alternaria solani and Curvularia lunata, the pathogenic dematiaceous moulds," Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, vol. 8, article 9.
- **Mohammedi Z. (2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la région Nord et SudOuest de l'Algérie.Thèse de doctorat." Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses". Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.52p.
- **Mompon B., Lemaire B., Mengal P. et Surbel D. (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA. 31-35.
- **Muga M.A., Chao J.C.-J. (2014).** Effects of Fish Oil and Spirulina on Oxidative Stress and Inflammation in Hypercholesterolemic Hamsters. BMC Complement. Altern. Med., 14, 470.
- **Mustafa G., Umino T., Nakagawa H. (1994).** The effect of Spirulina feeding on muscle protein deposition in red sea bream, Pagrus major". Journal of Applied Ichthyology.10(2-3):141-5.
- **N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D. And Aké-Assi L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte d'Ivoire). Sci Nat. 6 (1) : 1 – 15.
- **N'Guessan K., Kadja B., Zirihi G. N., Traoré D. et Aké-Assi L. (2009).** Screening photochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-D'ivoire). Sci. Nat., 6: 1-15.
- **Nabti L. Z. And Belhattab R (2016).** in vitro antioxidant activity of Oudneya africana R. Br. Aerial parts. Issues in Biological Science and Pharmaceutical Research.vol.4(6): 58-64.

- **Nedeva R., Jordanova G., Kistanova E., Shumkov K., Georgiev B., Abadgieva D., Kacheva D., Shimkus A. and Shimkine A. (2016).** "Effect of the addition of *Spirulina platensis* on the productivity and some blood parameters on growing pigs". *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2014. Retrieved February 20.
- **Nishizuka Y. (1988).** "The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation," *Nature*, vol. 334, no. 6184, pp. 661–665.
- November 20, 2008, Circular 1034.
- **Nowruzi B., Sarvari G. and Blanco S. (2020).** Applications of cyanobacteria in biomedicine. In *Handbook of Algal Science, Technology and Medicine* (pp. 441–453). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818305-2.00028-0>
- **Nowruzi B., Sarvari G. and Blanco S. (2020).** The cosmetic application of cyanobacterial secondary metabolites. *Algal Research*, 49, 101959. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101959>
- **Olosunde O., Kamaldeen A., Buhari A. (2012).** Phytochemical screening and antimicrobial properties of common brand of black tea (*camellia sinensis*) marketed in Nigerian environment. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2(2): 259-263
- **Olvera-Novoa MA, Dominguez-Cen LJ, Olivera-Castillo L, Mart'inez-Palacios Carlos A.** Effect of the use of the microalga *Spirulina maxima* as fish meal replacement in diets for tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture Research*. 1998; 29:709-15.
- **Ouldyerou K. (2018).** Etude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétiques au niveau de la wilaya de Mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*, 5(1), 670-679.
- **Pan M.H., Lai C.S. and Ho C.T. (2010).** "Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids," *Food and Function*, vol. 1, no. 1, pp. 15–31.
- **Panche A. N., Diwan A. D. and Chandra S. R. (2016):** *Journal of Nutritional Science*, vol. 5, e47, page 1 of 15.
- **Pandey A.K., Mishra A.K. and Mishra A. (2012).** "Antifungal and antioxidative potential of oil and extracts derived from leaves of Indian spice plant *Cinnamomum tamala*," *Cellular and Molecular Biology*, vol. 58, pp. 142–147.
- **Pandey A.K., Mishra A.K., Mishra A., Kumar S. and Chandra A. (2010).**

- “Therapeutic potential of *C. zeylanicum* extracts: an antifungal and antioxidant perspective,” *International Journal of Biological and Medical Research*, vol. 1, pp. 228–233.
- **Parikh P., Mani U. And Iyer U. (2001).** Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*.4(4):193–199. DOI: 10.1089/10966200152744463.
 - **Patil V., Patil S., Kondawar M., Naikwade N. And Magdum C. (2009).** Study of methanolic extract of flower of *spathodea companulata* L. as an anti-solar. *International Journal of Green Pharmacy*, 3(3): 248-249.
 - **Peiretti PG., Meineri G. (2008).** Effects of diets with increasing levels of *Spirulina platensis* on the performance and apparent digestibility in growing rabbits. *Livestock Science*. ;118(1):173-7.
 - **Petko Ivanov PENCHEV. (2010).** « Etude des procédés d’extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions » thèse du doctorat de l’université de Toulouse.
 - **Pincemail J., Debby C., Lion Y., Braquet P., Hans P., Drieu K and Goutier R. (1986).** *Stud. Org. Chem* 23, p: 423.
 - **Prior RL., Wu X. (2006).** Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*. 2006 ; 40(10): 1014-1028.
 - **Pulz O., Gross W. (2004).** Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*.
 - **Radhika B., samreen N., Ramya N. And Nisa N. (2019).** Evaluation of antisolair activity of *hibiscus hirtus* linn. *J.Bio.Innov* 8(2), pp: 127-133.
 - **Ramakrishnan R. (2013).** Anticancer properties of blue green algae *Spirulina platensis* – A Review. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences (IJMPS)*.
 - **Rao AV and Gurfinkel DM (2000).** The Bioactivity of Saponins: Triterpenoid and Steroidal Glycosides. *Drug Metabolism and Drug Interactions*. 17: 1-4.

- **Ribereau-Gayon P. (1968).** Notion générale sur les composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod. Pp :1-40.
- **Rich F. (1931).** Notes on *Arthrospira platensis*, Rev. Algol., 6, 75.
- **Richter G. (1993).** Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Ed Presse polytechnique et universitaire romande. pp: 317-339.
- **Rira M. (2006).** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie. 94 p.
- **Rosario J. C., Josephine R. M. (2015).** Mineral profile of edible algae *Spirulina platensis*. Int J Curr Microbiol App Sci, 4(1), 478–483.
- **Ross Dominy W. (1990).** The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. Poult Sci.69:794-800.
- **S.Kazuno., Yanagida M., Shindo N. and Murayama K. (2005).** Mass spectrometric Identification and Quantification of glycosyl Flavonoids, including dihydrochalcones with neutral loss scan mode. Anal. Biochem. 347: 182-192.
- **Samuels R., Mani UV., Iyer UM. And Nayak US. (2002).** Hypocholesterolemic effect of *Spirulina* in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome. Journal of Medicinal Food. 5(2):91–96. DOI: 10.1089/109662002760178177.
- **Santos T.D., Freitas B.C.B.de., Moreira J.B., Zanfonato, K. and Costa J.A.V. (2016).** Development of powdered food with the addition of *Spirulina* for food supplementation of the elderly population. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 37, 216–220. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.07.016>.
- **Sarni-Manchado P. et Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier. pp : 02-11
- **Sayre RM., Agin PP., Levee GJ. And Marlowe E. (1979).** Comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. Photochem Photobiol. 29:559–66.
- **Scalbert A., Johnson I.T., Saltmarsh M. (2005).** Polyphenols: antioxidants and beyond. The American Journal of Clinical Nutrition, vol. 81, p. 215S - 217S.
- **Schofield P., Mbugua D.M. And Pell A.N. (2001).** Analyses of condensed tannins. Anim. Feed Sci. Technol. 91: 21-40.

- **Schwartz J and Shklar G (1987).** "Regression of experimental hamster cancer by beta carotene and algae extracts , " Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, vol. 45, no. 6, pp. 510–515 ,.
- **Selmi C., Leung PS., Fischer L., German B., Yang CY., Kenny TP., Cysewski GR. and Gershwin ME. (2011).** The effects of Spirulina on anemia and immune function in senior citizens. Cellular and Molecular Immunology.8:248–254. DOI: 10.1038/cmi.2010.76.
- **Seyidoglu N. And Galip N. (2014).** Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Spirulina platensis* on Growth performances and biochemical parameters in rabbits. Journal of Kafkas Veterinary Faculty. 20(3):331–336. DOI: 10.9775/kvfd.2013.9988.
- **Seyidoglu N., Inan S. and Aydin C. (2017).** A Prominent Superfood: *Spirulina platensis*. INTECH Open. shellfish Immunology. 2010;28(5):764-73.
- **Shankar Mane R. And Chakraborty B. (2018).** Phytochemical screening of *Spirulina platensis* extracts from Rankala Lakekolhapur, India. J Algal Biomass Utln. 9 (4): 38-41.
- **Shklar G and Schwartz J (1988).**" Tumor necrosis factor in experimental cancer regression with alphotocopherol, beta- carotene, canthaxanthin and algae extract, " European Journal of Cancer and Clinical Oncology, vol. 24, no. 5, pp. 839–850.
- **Sili, C;Torzillo, G; Vonshak, A. (2013).** *Arthrospira* (*Spirulina*). B.A. Whitton (ed.), Ecology of Cyanobacteria II: Their Diversity in Space and Time.
- **Simpore J., Zongo F., Kabore F., Dansou D., Bere A., Nikiema JB., Pignatelli S., Biondi DM., Ruberto G. And Musumeci S. (2005).** Nutrition rehabilitation of HIV-infected and HIV-negative undernourished children utilizing spirulina. Annals of Nutrition & Metabolism. 49(6):373–380. DOI: 10.1159/000088889.
- **Simsek N., Karadeniz A., Keles ON. And Unal B. (2009).** *Spirulina platensis* feeding inhibited the anemia- and leukopenia-induced lead and cadmium in rats. Journal of Hazardous Materials. 164(2–3):1304–1309. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.09.041.
- **Songklanakarin J.Sci.Technol. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activit, 26 (2): 211-219.
- **Sotiroudis TG et Sotiroudis GT. (2013).** Health aspects of spirulina (*Arthrospira*) microalga food supplement. J serb chem soc 78(3):395-405.

- **Sparg SG., Light ME. And Van Staden J (2004).** Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 94: 219-243.
- **Stéphane Q., Tatiana V., Diana K., Michael J., Patrick P., Christian B., petia G., Theodore D. and Rozalina P. (2004).** Main structural and stereochemical aspects of the antiherpetic activity of nonahydroxyterphenoyl- containing C- glycosidic ellagitannins. *Chemistry & biodiversity*; 1(2):247- 58.
- **Szkudelska K., Nogowski L. (2007).** Genistein—a dietary compound inducing hormonal and metabolic changes. *J Steroid Biochem Mol Biol*105,37–45.
- **Tayag CM, Lin Y-C, Li C-C, Liou C-H, Chen J-C. (2010).** Administration of the hot -water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish &*
- **Thangaraj M., Saravana B.P., Thanasekaran J., Joen-Rong S., Manubolu M. and Pathakoti K. (2022).** Phytochemicals of algae, *Arthospira platensis*(spirulina) *Chlorella vulgaris* (chlorella) and *Azolla pinnata* (azolla). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 19(02), 023–043.
- **Timmermann B.N., Steelin C. and Loewus F.A. (1984).** Recent Advances in Phytochemistry *Phytochemical Adaptations to Stress* .Plenum Press: New York.vol.18. pp. 273–220.
- **Torres-Duran PV, Ferreira-Hermosillo A, Juarez-Oropeza MA. (2007).** *Bio Med Central*. doi:10.1186/1476-511X-6-33.
- **Toyomizu M, Sato K, Taroda H, Kato T, Akiba Y.** Effects of dietary spirulina on meat colour in muscle of broiler chickens. *Br Poult Sci*. 2001; 42:197-202.
- **Tunon M.J., Garcia-Mediavilla M.V., Sanchez-Campos S. and Gonzalez-Gallego J. (2009).** “Potential of flavonoids as anti-inflammatory agents: modulation of pro-inflammatory gene expression and signal transduction pathways,” *Current Drug Metabolism*, vol. 10, no. 3, pp. 256–271.
- **Van eykelenburg C. (1979).** The ultrastructure of *Spirulina platensis* in relation to temperature and light intensity, *A.Leeuwenhoek*, 45, 369.
- **Vermerris W. et Nicholson R. (2007).** *Phenolic Compound Biochemistry*. Ed, Springer: U.S.A. 288p.

- **Vidotti E.C; Rollemberg M.C.E. (2004).** Algas: da economia nos ambientes aquáticos a biorremediação e a química analítica. *Quim. Nova*, v.27, n. 1, 139 – 145.
- **Vijayakumari B., Sasikala V., Radha S.R. et Tamilnadu. (2013)** –Preliminary phytochemical screening of the various extracts of *Rotula Aquatica* Lour. India.
- **Vonshak A. (1990).** Recent advances in microalgal biotechnology. *Biotech. Adv.*, 8: 709–727.
- **Vonshak A. (1996).** *Spirulina platensis* (Arthrospira) Physiology, cell-biology and biotechnology. Taylor and Francis.
- **WatreLOT A. and Norton E.L. (2020).** Chemistry and Reactivity of Tannins in *Vitis* spp.: A Review. *Molecules*, 25, 2110.P5.
- **Wheeler D. L., chappey C., Lash A. E., Leipe D. D., Madden T. L., Schuler G. D., Tatusova T. A., Rapp B. A. (2000).** Database resources of the national center for biotechnology information; *Nucleic acids research*; 28:10-14.
- **Wu H., Pratley J., Lemerle D. and Haig T. (2000).** Laboratory screening for allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) accessions against annual ryegrass (*Lolium rigidum*). *Australian Journal of Agricultural Research*. 51: 259-266.
- **Wu Q., Liu L., Miron A., Klímová B., Wan D. and Kuča, K. (2016).** The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of Toxicology*, 90(8), 1817–1840. <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1744-5>
- **Yamani E., Kaba-Mebri J., Mouala C., Gresenguet G. And Rey JL. (2009).** Use of spirulina supplement for nutritional management of HIV-infected patients: Study in Bangui, Central African Republic. *Medecine Tropicale*. 69(1):66–70. DOI: 19499738.
- **Yap C.F., Ho C.W., Wan Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y. And Leong Y. S. (2009).** Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola* L.) Residues (Pengoptimuman Parameter Pengekstrakan Jumlah Sebatian Fenolik daripada Residu Belimbing (*Averrhoa carambola* L.); *ains Malaysiana*.vol.38(4): 511–520.
- **Yeganeh S., Teimouri M. And Amirkolaie AK. (2015).** Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science*. 101:84–88. DOI: 10.1016/j.rvsc.2015.06.002.

- Zhang S.Y., Zheng C.G., Yan X.Y. And Tian W.X. (2008). Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells, Biochemical and Biophysical Research Communications.vol. 371: 654-658.
- Zuhra, C.F., J. Tarigan dan H. Sihotang. (2008). Aktivitas antioksidan dna senyawa flavonoid dari daun katuk (Sauropus androgynus (L) Merr). J. Biologi Sumatra, 3(1): 7 – 10. Universitas Sumatra.

بن سالمه ع.ا. 2012 -النشاطات المضادة لأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانتين لمستخلصات أوراق الماجستير في Hertia مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. الجزائر. 90 ص
cheirifolia L

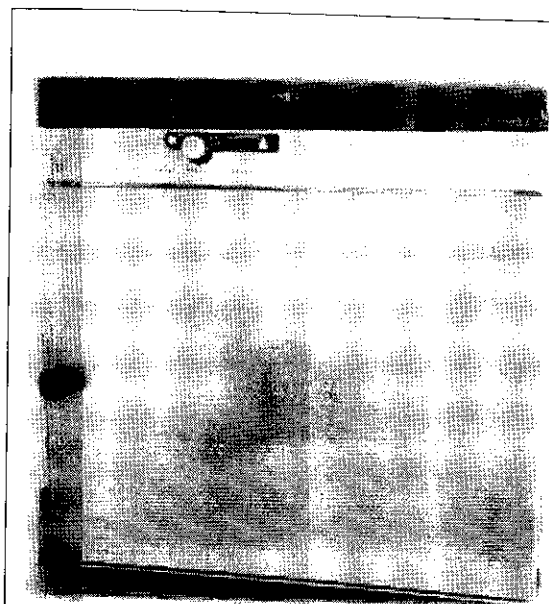
المرطى النامي في منطقة L'her. الحادة ع و مكي. لمساهمة في دراسة فيتوكيميائية والنشاطية البيولوجية لنبات صحراوي واد سوف

العابد ا.دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران .مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية . جامعة قاصدي مرباح ورقلة الجزائر.106ص.

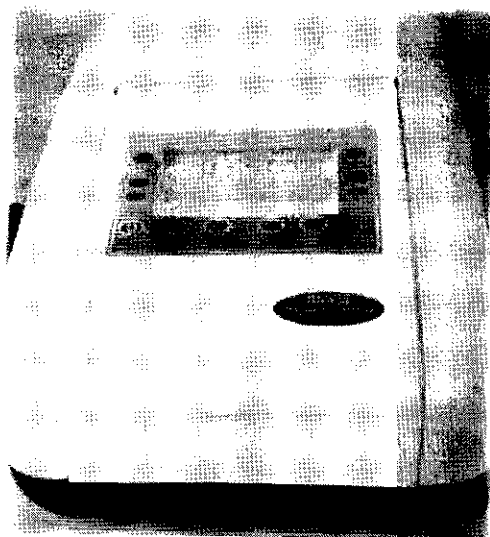
Traganum nudatum

Annexe

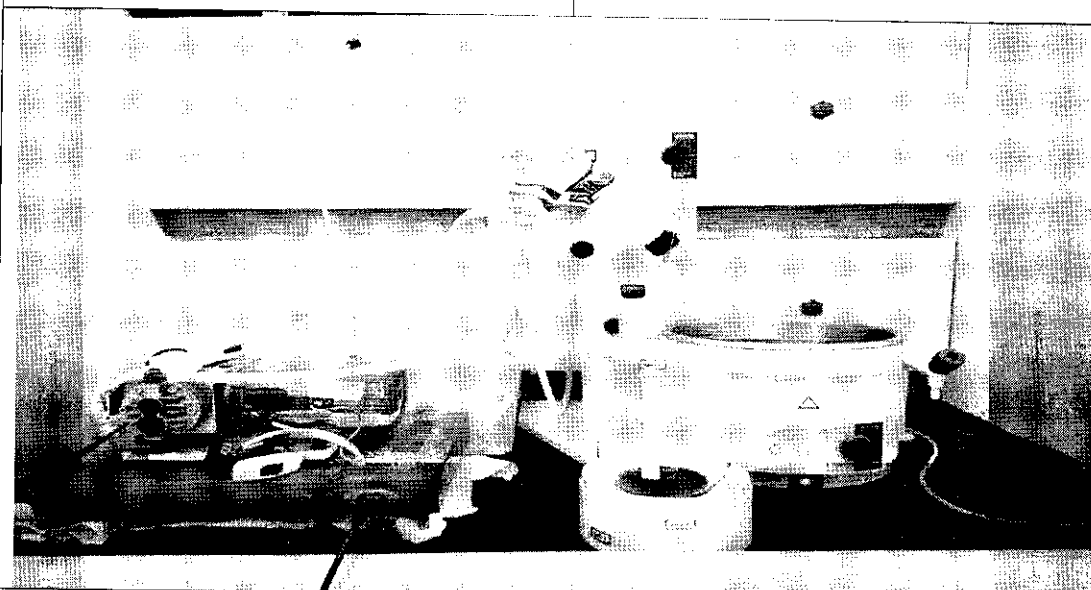
Annexe 1



Etuve



Spectrophotomètre



Rotavapeur

Annexe 2

