



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N° d'ordre :
N° de série :

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

Etude des activités biologiques des extraits de spiruline

Présenté par :

- ✓ BEN MOUSSA Sliman
- ✓ BOUKHEZNA Nourelimen
- ✓ DJARI Tedjani

Devant le jury composé de:

Président :	LAICHE Ammar Tohami	M.C.B	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Examineur :	Ahmed Ghania	M.C.B	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Promoteur :	KIRAM Abderrazak	M.A.A	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Au nom d'Allah, le plus Bienfaisant, le Très Miséricordieux, les efforts ne sont rien sans sa volonté. Toutes les louanges à Allah qui nous a donné la force de continuer ce travail, un grand merci à lui et à son dernier prophète Mohamed que la paix soit sur lui.

Je tiens à remercier chaleureusement mon superviseur, le ***Dr . KIRAM Abderrazak***. Je tiens également à remercier tout particulièrement ***Benamara selma, Khunufah Omar et le professeur Mudallal Abdulqadir*** qui ont apporté des encouragements, partagé leur expertise, leur aide et leur soutien. Enfin et surtout, j'exprime ma sincère gratitude à ma famille pour son soutien, sa compréhension et ses encouragements indéfectibles. Leur amour, leur patience et leur confiance en moi ont été la pierre angulaire de mes réalisations, et je leur serai éternellement reconnaissant de leur présence dans ma vie.

Résumé

Nos travaux ont porté sur l'évaluation de plusieurs méthodes d'extraction de composés bioactifs, à partir de biomasse sèche de spiruline produite à partir de deux régions différentes X1 et X2. Afin de déduire la méthode optimale pour obtenir un rendement élevé, une teneur en chlorophylle et en caroténoïdes, et une grande concentration de phycocyanine, la teneur en composés phénoliques, l'activité biologique (antioxydants). Les méthodes d'extraction ont été évaluées (eau, congélation, sonification, méthanol, in-fusionné, décocté, macéré), le criblage phytochimique a été effectué par la détection chimique des extraits précités, les meilleurs résultats ont été obtenus dans la spiruline X1.

En mesurant la teneur en phénoliques totaux, en flavonoïdes et en tanins, où nous avons enregistré la supériorité des résultats des extraits méthanoliques sur le reste des extraits, le phénolique total de spiruline atteint (56,15mg/g) X2, ainsi que la méthode d'extraction (phénolique totale) avec du méthanol est le meilleur moyen d'obtenir un rendement élevé en spiruline (33,7%) X2.

L'échantillon de spiruline X2 donne un pourcentage élevé de chlorophylle a, b et de caroténoïdes (chlorophylle a 10,04 mg/g, chlorophylle b 6,0357 mg/g et caroténoïdes 1,19606 mg/g).

La méthode d'extraction par congélation est la meilleure méthode d'extraction de phycocyanine à partir de un échantillon de spiruline X2 (0,093 mg/mL). L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par test DPPH, où il a été constaté que l'extrait de sonification de Spiruline X2 avait l'activité antioxydante la plus faible ($IC_{50} = 0,048 \mu\text{g} / \text{ml}$) et surpassait le reste des extraits.

Mots-clés : spiruline, phycocyanine, phénolique totale, activité antioxydante.

ABSTRACT

Our work focused on the evaluation of several methods for extracting bioactive compounds, from dry spirulina biomass produced from two different regions X1 and X2. In order to deduce the optimal method to obtain a high yield, chlorophyll and carotenoid content, and a high concentration of phycocyanin, the content of phenolic compounds, biological activity (antioxidants). Extraction methods were evaluated (water, freezing, sonification, methanol, in-

fused, decocted, macerated), phytochemical screening was carried out by chemical detection of the aforementioned extracts, the best results were obtained in spirulina X1.

By measuring the content of total phenolics, flavonoids and tannins, where we recorded the superiority of the results of the methanolic extracts over the rest of the extracts, the total phenolic of spirulina reached (56.15mg/g) X2, as well as the extraction method (total phenolic) with methanol is the best way to obtain a high yield of spirulina (33.7%) X2.

The spirulina sample X2 gives a high percentage of chlorophyll a, b and tenoids (chlorophyll a 10.04 mg/g, chlorophyll b 6.0357 mg/g and carotenoids 1.19606 mg/g).

The freezing extraction method is the best method for extracting phycocyanin from a sample of spirulina X2 (0.093 mg/mL). The antioxidant activity of our extracts was evaluated by DPPH test, where it was found that the sonification extract of Spirulina X2 had the lowest antioxidant activity (CI50 = 0.048 µg/ml) and surpassed the rest of the extracts.

Keywords: spirulina, phycocyanin, total phenolic, antioxidant activity.

الملخص

ركز عملنا على تقييم عدة طرق لاستخراج المركبات النشطة بيولوجيا ، من الكتلة الحيوية الجافة للسبيرولينا المنتجة من منطقتين مختلفتين X1 و X2. من أجل استنتاج الطريقة المثلى للحصول على غلة عالية ، ومحتوى الكلوروفيل والكاروتينات ، وتركيز عال من phycocyanin ، ومحتوى المركبات الفينولية ، والنشاط البيولوجي (مضادات الأكسدة). تم تقييم طرق الاستخلاص (الماء ، التجميد ، الصوتنة ، الميثانول ، في-

تصهر ، منزوع ، مزخرف) ، تم إجراء الفحص الكيميائي النباتي عن طريق الكشف الكيميائي عن المستخلصات المذكورة أعلاه ، وتم الحصول على أفضل النتائج في سبيرولينا X1. من خلال قياس محتوى إجمالي الفينولات والفلافونويد والعفص ، حيث سجلنا تفوق نتائج مستخلصات الميثانول على بقية المستخلصات ، بلغ إجمالي الفينول للسبيرولينا (56.15 مجم / جم) X2 ، وكذلك طريقة الاستخراج (الفينوليك الكلي) مع الميثانول هي أفضل طريقة للحصول على عائد عالي من السبيرولينا (33.7%) X2.

تعطي عينة سبيرولينا X2 نسبة عالية من الكلوروفيل أ و ب والتينويدات (الكلوروفيل أ 10.04 مجم / جم ، الكلوروفيل ب 6.0357 مجم / جم والكاروتينات 1.19606 مجم / جم). طريقة استخراج التجميد هي أفضل طريقة لاستخراج phycocyanin من عينة من سبيرولينا X2 (0.093 ملغ / مل). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصاتنا عن طريق اختبار DPPH ، حيث وجد أن مستخلص الصوتنة من سبيرولينا X2 كان له أقل نشاط مضاد للأكسدة (CI50 = 0.048 ميكروغرام / مل) وتجاوز بقية المستخلصات.

الكلمات المفتاحية: سبيرولينا ، فيكوسيانين ، إجمالي الفينول ، نشاط مضاد للأكسدة.

Liste des figures

N°	Titre des figures	Page
01	Observation microscopique de <i>Spiruline platensis</i> . a Grossissement 10. b Grossissement 40. Grossissement 100	07
02	Cycle de vie de la spiruline	07
03	Classification de la spiruline	08
04	Répartition géographique de spiruline	09
05	Composition chimique de la spiruline	12
06	Spiruline en poudre cultivée dans la région X1.	20
07	Spiruline en poudre cultivée dans la région X2	20
08	Décocté à 10% des deux échantillons de spiruline de deux régions x1 et x2.	25
09	Infusé avec 5 % des deux échantillons de spiruline provenant de deux régions X1 et X2.	25
10	Protocole d'extraction des extraits phénoliques totaux. (Modifié).	29
11	Protocole d'extraction des flavonoïdes. (Modifié).	30
12	Protocole d'extraction des tanins. (Modifié).	31
13	Extraction par congélation dans différentes régions de spiruline X1 et X2. (Photos personnelles)	33
14	Protocole pour les doses de composés phénoliques et flavonoïdes totaux et de tanins condensés porcheries chlorophylle A,B et caroténoïdes. (Modifié)	38
15	Réaction chimique DPPH	39
16	Rendements en extraits de spiruline (X1 et X2).	47
17	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination des polyphénols totaux.	49
18	Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la détermination des flavonoïdes.	50
19	Courbe d'étalonnage de l'acide catéchine pour le dosage des tanins condensés.	50
20	Histogramme basé sur les mesures des extraits de spiruline X1 et X2.	51
21	Concentrations et pourcentages de pureté de phycocyanine de spiruline X1.	53
22	Concentrations de phycocyanine de spiruline X2 et pourcentages de pureté	53
23	Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes en (mg/g) dans différentes régions d'extraits de spiruline	55
24	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	56
25	valeurs CI50 des différents extraits et de l'acide ascorbique en (µg/ml).	57

Liste des tableaux

N°	Titre des tableaux	Page
01	Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques	10
02	outils, appareils, solutions et réactifs utilisés dans les essais phytochimiques	21
03	outils, appareils et solutions utilisés pour extraire les extraits.	22
04	outils, appareils et solutions utilisés pour la détermination quantitative des composés phénoliques	23
05	Outils, appareils et solutions utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante	24
06	Résultats de la détection des composants actifs de la spiruline provenant de deux régions différentes (X1 et X2) pour l'extrait décocté.	44
07	Résultats des extraits de spiruline platensis (X1 et X2)	46
08	Valeurs de concentration et de pureté de la spiruline X1, X2 selon le mode d'extraction	52

LISTE DES ABRÉVIATIONS

MGDG : monogalactosyl diacylglycérol.

DGDG : digalactosyldiacylglycérol.

SQDG : sulfoquinovosyldiacylglycérol.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

LPO : Peroxydes lipidiques.

MDA : malondialdéhyde .

SOD : superoxyde dismutase.

GPx : glutathion peroxydase .

GSH : glutathion réduit

E. coli :Escherichia coli .

TNF α :Facteur de nécrose tumorale alpha

IL-1 β :Interleukine-1 β .

IL-6: Interleukine 6 .

COX-2 : cyclooxygénase .

CI50 :Concentration inhibitrice de 50 % .

VIH-1: virus de l'immunodéficience humaine .

HSV-1 :virus Herpes simplex .

AGL : acide gamma-linolénique .

PGE1 : prostaglandine E1 .

SARS-CoV-2 :Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 .

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil .

AlCl₃: aluminum chloride.

Mg: Metallic magnesium.

MeOH: methanol .

UV: ultraviolet radiation .

Ca-SP : Calcium-spirulan .

SOMMAIRE

Remerciement
Résumé et mots-clés
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste d'abréviation
Introduction
PARTIE I PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I Généralité sur la spiruline

1. Définition	6
2. Morphologie	6
3. Reproduction et cycle biologique.....	7
4. Taxonomie	7
5. Répartition géographique	8
6. milieux de cultures favorables à la croissance de la spiruline.....	9
7. Production de la spiruline	10

CHAPITRE II Biochimie de Spiruline

1. Composition et valeur nutritionnelle.....	12
1.1. Les protéines.....	12
1.2.Les glucides	12
1.3.Les lipides.....	12
1.4.Les minéraux.....	13

1.5. Les vitamines.....	13
1.6. Les enzymes.....	13
1.7. Les pigments.....	13
1.7.1. La chlorophylle	13
1.7.2. La phycocyanine.....	14
1.7.3. La Béta-carotène	14
2. Activités biologiques de la spiruline	14
2.1. Activité antimicrobienne.....	14
2.2. Activité antioxydante	14
2.3. Activité antivirale.....	15
2.4. Activité anticancéreuse	15
3. Principales applications de la spiruline	15
3.1. En alimentation humaine.....	15
3.2. En alimentation animale	16
3.3. En cosmétique	16
3.4. En thérapeutique.....	17

Partie II Etude expérimentale

CHAPITRE I MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	20
1.1. Matériel biologique	20
1.2. Matériel et équipement non biologiques	20
1.2.1. Criblage phytochimique.....	20

1.2.2. Extraction	21
1.2.3. Dosage quantitatif des composés phénoliques.....	22
1.2.4 activités biologiques	23
1.2.4.1. Évaluation de l'activité antioxydante.....	23
2. Méthode.....	24
2.1. Criblage phytochimique.....	24
2.1.1. Préparation des solutions pour l'analyse Préparation de la décoctée .	25
2.1.2. Test des flavonoïdes	26
2.1.3. Test des tanins	26
2.1.4. Test des alcaloïdes	27
2.1.5. Test des phénols.....	27
2.1.6. Test des stérols et des triterpènes	27
2.1.7. Test des composés réducteurs	27
2.1.8. Test des saponosides.....	28
2.2. Extraction de composés phénoliques	28
2.2.1. Préparation d'extraits phénoliques totaux	28
2.2.2. Extraction des flavonoïdes	28
2.2.3. Extraction des tanins.....	30
2.2.4. Extraction par sonification	31
2.3. Extraction par congélation	32
2.4. Détermination du rendement d'extraction.....	33
2.5. Dosage des composés phénoliques	34

2.5.1. Dosage de phénolique total	34
2.5.2. Dosage des flavonoïdes	35
2.5.2. Dosage des tanins condensés	36
2.5.3. Pigments Chlorophylle a, b et caroténoïdes	36
2.6. Study of biological activity	38
2.6.1. Activité antioxydante	38
2.6.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH	38

CHAPITRE II RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Criblage phytochimique	43
1.1. Description	45
1.2. Discussion	45
2. Rendement des extraits obtenus	46
2.1. Description	47
2.2. Discussion	48
3. Analyse quantitative des composés phénoliques	49
3.1. Détermination du phénolique total.....	49
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	49
3.3. Détermination des tanins condensés.....	50
3.3.1. Description	51
3.3.2. Discussion	51
3.4. Teneur en phycocyanine	52
3.4.1. Discription	53

3.4.2. Discussion	54
3.5. Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes.....	54
3.5.1. Description	55
3.5.2. Discussion	55
4. Activités biologiques	56
4.1. Activité antioxydante	56
4.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH.....	56
CONCLUSION GÉNÉRALE	59
BIBLIOGRAPHIE.....	62

INTRODUCTION

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité par de nombreuses personnes dans le monde entier. De nos jours, les plantes sont souvent utilisées pour développer divers produits utiles pour la santé humaine, y compris les médicaments, car ils contiennent des composés spéciaux d'activité biologique (par exemple, alcaloïdes et terpénoïdes) qui ont été utilisés expérimentalement en médecine traditionnelle. Pour lutter contre les maladies causées par les radicaux libres associés au stress oxydatif, y compris les maladies du système nerveux central, le cancer, les maladies cardiaques et autres, on estime que 20 millions de personnes ont reçu un diagnostic de cancer, tandis que 10 millions de personnes en sont mortes, et c'est l'une des principales causes de décès dans le monde. Les humains ont associé la médecine traditionnelle à la médecine moderne et l'ont développée pour traiter les maladies avec des plantes médicinales et des micro-organismes bénéfiques tels que les micro-algues (**Simpore et al. ,2006**) .

Spirulina platensis est une cyanobactérie qui pousse dans l'eau salée, et c'est l'un des suppléments nutritionnels utiles au corps humain, et il fournit une alimentation équilibrée, Il est connu pour sa haute valeur nutritionnelle en protéines (60-70% en poids sec), Vitamines (B1, B2, B12, E, A, K), MINÉRAUX, ACIDES GRAS ESSENTIELS, CONSTITUENT UNE BONNE SOURCE DE CHLOROPHYLLE ET DE CAROTÉNOÏDES, Surtout la phycocyanine, qui est responsable de la couleur bleue et est le porc le plus commun Il est abondant dans la spiruline et représente plus de 15% du poids de la spiruline (**Lafri et al. ,2017**) . Il se caractérise par le fait qu'il contient des composés actifs et biochimiques qui ont des avantages et des propriétés thérapeutiques prometteurs. est riche en antioxydants qui sont importants pour maintenir la santé du cœur, du foie et des reins, soutenir le système immunitaire et la mémoire, et lutter contre les maladies malignes. Il agit comme un antidote différent. Fournit un coup de pouce presque instantané d'énergie au corps. Améliorer l'endurance et réduire la fatigue (Uddin et al. ,2018) .

Dans le monde, la spiruline est cultivée de trois manières différentes (traditionnelle, semi-industrielle, industrielle) où elle peut pousser automatiquement en raison de la présence de conditions appropriées (pH, salinité, température) pour sa croissance. Sa valeur de production atteint cinq mille tonnes par an. Sur le plan économique, sa valeur se situe dans la fourchette de 487 000 EGP (seulement quatre cent quatre-vingt-sept mille livres égyptiennes), approximativement selon le prix du marché. Il est utilisé comme alimentation humaine (90%) et animale (10%) pour l'alimentation des poissons et de la volaille, etc. (**Ahsan et al. ,2008**)

En Algérie, on trouve deux fermes, l'une en Biskra et l'autre à Tamanrasset qui se spécialise dans la culture de la spiruline, où ce micro-organisme se reproduit naturellement dans un poud

où toutes les conditions sont réunies : pH alcalin (8,8-10), température relativement élevée (35-37°C) et étude du climat et des ressources en eau de la région. La capacité de production annuelle est de 30 tonnes. Il est utilisé comme aliment en raison de sa valeur nutritionnelle élevée et bonne, ainsi que pour la production animale. (**Zidane et al. ,2022**).

Afin d'extraire les métabolites secondaires, nous nous sommes concentrés dans ce travail sur différentes méthodes d'extraction, comme suit : extraction par (eau, méthanol, acétate d'éthyle, acétone, congélation, sonification).

Nous nous concentrons sur l'étude de la spiruline cultivée dans deux régions différentes après avoir fait des extraits pour connaître les composés actifs présents dans de bonnes et significatives valeurs et l'activité antioxydante de ces extraits, donc: Quelles sont les méthodes d'extraction qui donnent un meilleur rendement entre les deux échantillons, et lequel d'entre eux peut donner une bonne force pour inhiber les racines libres? Quelle spiruline donne de meilleures activités biologiques entre deux souches de spiruline.

L'objectif de ce travail

1. Apprendre les différentes méthodes d'extraction des composés de spiruline.
2. L'étude des bienfaits des composés bioactifs
3. L'étude de l'activité antioxydante de la composé extraite
4. Notre travail sera divisé en deux parties La partie théorique qui contient trois chapitres
5. Le premier chapitre Informations générales sur la spiruline .
6. Le deuxième chapitre Composition biochimique de la spiruline
7. Chapitre trois : Activités biologiques de la spiruline
8. La partie pratique, qui comporte deux chapitres : Le premier chapitre : Matériaux et méthodes Le deuxième chapitre : Résultats et discussion
9. Et enfin, Conclusion

PARTIE I

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

Généralité sur la spiruline

1. Définition

La spiruline est une cyanobactérie microscopique et filamenteuse qui tire son nom de la nature spirale ou hélicoïdale de ses filaments (**Karkos et al., 2011**). le nom scientifique est "cyanobactérie *Arthrospira platensis*" se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire bleu-vert, mobile, non ramifié et enroulé en spirale, qui vit de photosynthèse comme les plantes et prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe (**Jordan, 1999; Cruchot, 2008**).

Elle est reconnue comme l'un des aliments les plus nutritifs de la planète (**Jung et al., 2019**), elle est donc tout naturellement que la spiruline utilisée comme un complément alimentaire, mais parfois comme un repas complet. Sa richesse en nutriment elle a permis d'attirer l'attention des chercheurs. Actuellement, ses utilisations sont nombreuses, Ce n'est plus seulement d'une question de valeur nutritive, Elle est entrée dans le domaine pharmaceutique, cosmétique et l'industrie alimentaire. La plupart des spirulines se développent dans les régions tropicales et subtropicales, des plans d'eau chaude, alcalines, fortement minéralisés, à haute teneur en carbonate et bicarbonate, et à pH et salinité relativement élevés (**Scheldeman et al., 1999**).

2. Morphologie

La spiruline a une morphologie très variable, selon la souche et les conditions de milieu de culture. Elle se compose de cellules végétatives présentent des parois facilement visibles, empilées bout à bout, appelées filaments ou trichomes. La principale caractéristique morphologique du genre est l'arrangement de ces trichomes. Ces derniers enveloppés d'une gaine très fine, présentent des réductions plus ou moins prononcées aux parois, non ramifier, avec un diamètre d'environ 10 à 12 μm et une longueur moyenne de 250 μm quand elle possède sept spires, flottent librement et présentent une motilité glissante (**Charpy, 2008**).

En ce qui concerne les différentes souches (ou variétés) de spirulines, on distingue les spirulines "spirales", "ondulées" et "droites". Le terme "spirales" désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (Inde); le terme "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (Pérou); Alors que le terme "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes. (**Delleci, 2011**).

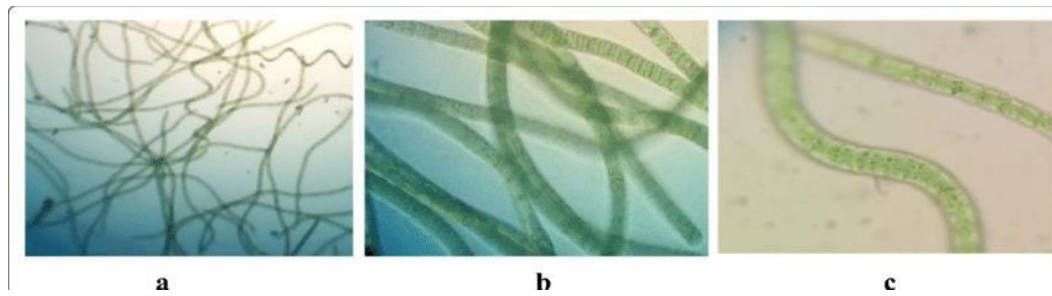


Figure 1. Observation microscopique de Spiruline platensis. a Grossissement 10. b Grossissement 40. c Grossissement 100 (Akbarizare et al, 2020).

3. Reproduction et cycle biologique :

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

- Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécriides, des cellules ayant un aspect concave.

- Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécriides aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies.

Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité (Charpy et al., 2008).

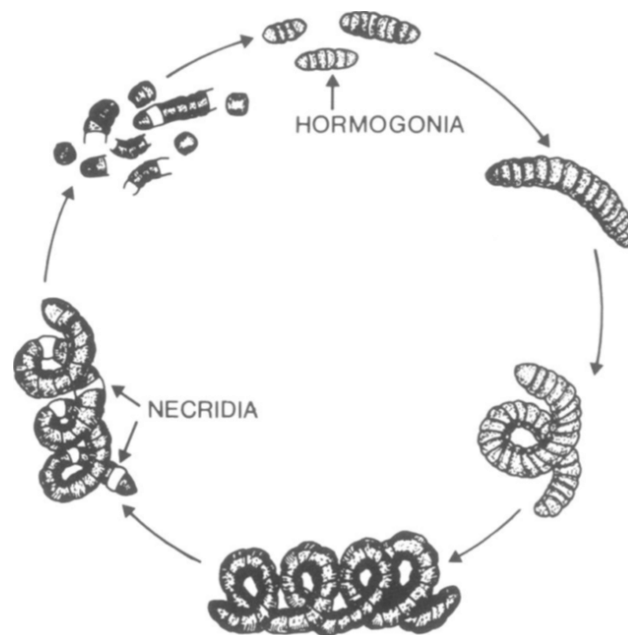


Figure 2 . Cycle de vie de la spiruline (Kashani, 2015).

4. Taxonomie

La spiruline était à l'origine considérée comme une algue. Cependant, en 1960 une claire distinction entre procaryote et eucaryote a été définie, basée sur la différence d'organisation cellulaire : les procaryotes regroupent les organismes dépourvus de compartiment cellulaire

tandis que les eucaryotes regroupent ceux qui possèdent des organelles c'est à dire des nucléoles et des mitochondries (**Durand-Chastel, 1993**). En 1962, Stanier et al (Stanier 1974 ; Stanier et Van Niel, 1962) constataient que cette algue bleu-verte était dépourvue de compartiments cellulaires, et donc faisait partie des procaryotes, ils proposaient de désigner ce microorganisme de «Cyanobactérie». Classification de la spiruline selon **Ripley Fox (1999)**

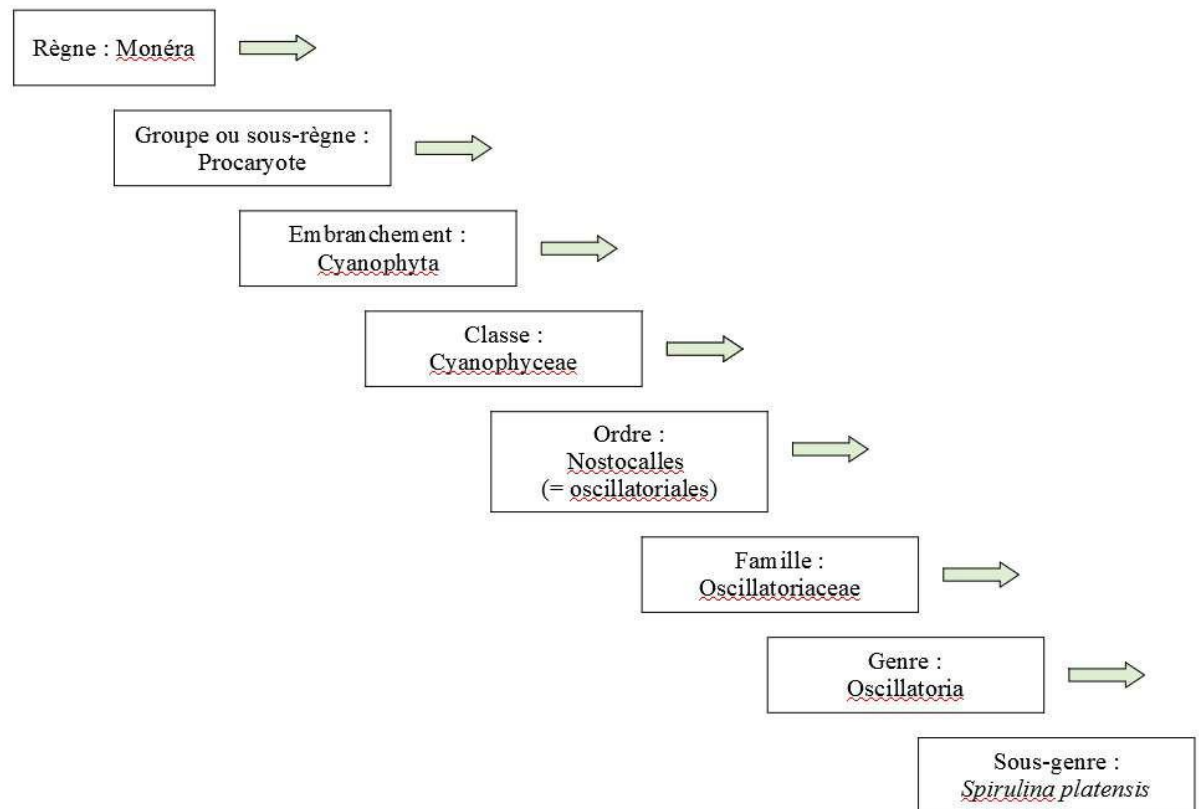


Figure 3. Classification de la spiruline selon Ripley Fox (1999)

5. Répartition géographique

La spiruline se développe dans des eaux chaudes et alcalines riches en nutriments azotés et phosphorés. Elle est plus courante dans les eaux saumâtres et les lacs salins des régions tropicales et semi-tropicales. Sa forte plasticité écologique lui permet d'être présente naturellement dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou) et en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Cependant, il est beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe en raison de son caractère thermophile et de ses besoins importants en lumière qui limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. (**Koru, 2012**).



Figure 4. Répartition géographique de spiruline (Louvel, 2019).

6. Milieux de cultures favorables à la croissance de la spiruline :

Plusieurs milieux de culture sont utilisés pour la croissance de la spiruline, ils diffèrent entre eux par la nature du produit chimique utilisé. Par exemple, on peut utiliser du bicarbonate naturel American, le natron, la lessive de cendres de bois, l'acide phosphorique extrait de la poudre d'os calcinés.

Voyons maintenant les paramètres physico-chimiques d'un milieu de culture et les stressés physiologique :

1) Température:

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C. 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, 2006**).

2) pH optimum :

Le pH optimum d'un milieu de culture neuf à confectionner, dépend de son utilisation. S'il doit être inséminé pour démarrer une nouvelle culture, son pH doit être d'au moins 9. S'il est trop bas, la culture risque de mal démarrer, avec formation de grumeaux ou précipitation de la spiruline au fond. Le natron, le mélange carbonate/bicarbonate, ou l'eau de cendre carbonatée sont donc bien adaptés à ce cas. Par contre, si le milieu neuf doit servir d'appoint à une culture existante son pH peut être avantageusement voisin de 8. Ce qui contribue à maintenir le pH de la culture suffisamment bas par apport de bicarbonate. C'est typiquement le cas des bassins en cours d'extension "à géométrie variable". Dans ce cas le milieu doit être à base de bicarbonate

seul. Si le milieu est à bas pH, on pourra plus facilement utiliser du NPK (**Jourdan, 2006**).

3) les oligo-éléments :

Au lieu de compter sur l'eau d'appoint et les sels pour apporter les oligo-éléments nécessaires à la croissance de la spiruline, il peut être plus sûr et même plus économique de les apporter par une solution concentrée toute prête (de coût très faible). L'ajout d'oligoéléments semble un facteur positif pour assurer une bonne récolte de manière habituelle. (**Jourdan, 2006**).

7. Production de la spiruline :

La production de la spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Elles se différencient par l'ordre de grandeur de l'investissement (moyens et matériaux utilisés), la surface des bassins de culture et d'exploitation, le tonnage de ces productions et la sophistication des techniques de production. Quel que soit le mode de production, il se base sur les mêmes étapes (Charpy et al., 2008).

Tableau 01 : Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques (Charpy et al., 2008).

Production / Caractéristiques	Artisanale	Semi industrielle	Industrielle
Taille de bassins	< 100 m ²	200-1000 m ²	1000 m ² - 5000 m ²
Surface totale exploitée	< 3000 m ²	3000 m ² - 1 hectare	plusieurs hectares
Capacité de production	< 200 kg	10-50 tonnes	50 - >500 tonnes

CHAPITRE II

Biochimie de Spiruline

1. Composition et valeur nutritionnelle

1.1. Les protéines

La spiruline comprend dans sa composition entre 60 et 70% de protéines, 15% de glucides, 6% de lipides, 7% de minéraux et de 3 à 6% d'eau (Figure 5) (Niangoren, 2017). Les protéines présentes sont considérées comme le principal atout de cette algue, car aucun aliment n'en concentre autant (Barth et Léo, 2019). Cependant Cette composition peut varier selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique ainsi que plusieurs autres paramètres (Niangoren, 2017). D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, donc de haute qualité, car tous les acides aminés essentiels y figurent (Jourdan, 2006 ; Gutierrez et al., 2015). Elles sont quasiment bio-assimilables à 100 %, ce qui signifie que le corps peut presque toutes les utiliser. C'est ce qui fait en partie la richesse nutritionnelle de cette micro-algue (Barth et Léo, 2019).

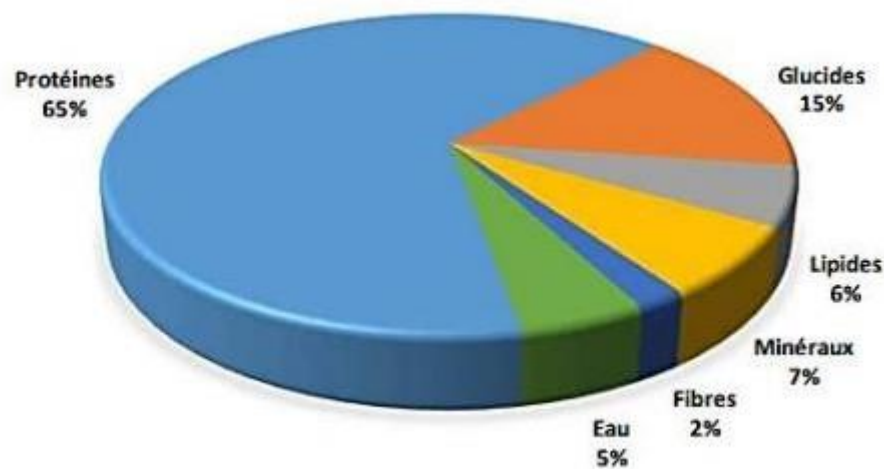


Figure 5 Composition chimique de la spiruline (Lecointre, 2017).

1.2. Les glucides

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

1.3. Les lipides

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

1.4. Les minéraux

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

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

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

1.5. Les vitamines

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

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

1.6. Les enzymes

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

1.7. Les pigments

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

1.7.1. La chlorophylle

Le taux de chlorophylle contenu dans la spiruline est d'environ 1%, l'un des plus élevés que l'on puisse trouver dans la nature (**Ahounou, 2018**). Sa structure étroitement apparentée à celle de l'hémoglobine des mammifères lui confère parfois l'appellation de "sang vert". C'est à ce pigment photosynthétique que la spiruline doit sa couleur verte : bien que ce ne soit pas le pigment le plus important en quantité, son fort pouvoir colorant l'emporte sur les autres. Faisant

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

1.7.2. La phycocyanine

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

1.7.3. La Béta-carotène

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

2. Activités biologiques de la spiruline

2.1. Activité antimicrobienne

Certaines études préliminaires in vitro d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (E. coli et S. aureus) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace (Qureshi et Hunter, 1995). Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques (Al-ghanayem, 2017).

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

2.2. Activité antioxydante

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

dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière. De nombreuses études in vitro et in vivo ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif (**Gou-lambasse, 2018**).

2.3. Activité antivirale

La richesse de la spiruline en β -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (**Andreani, 2011**).

L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité in vitro des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-1 (**Yougbare, 2007**).

Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer (**Andreani, 2011**).

2.4. Activité anticancéreuse

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

3. Principales applications de la spiruline

3.1. En alimentation humaine

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

→ En enrayant la malnutrition, elle est utilisée par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour sauver des enfants atteints de malnutrition sévère. Elle se révèle plus efficace que les médicaments pour pallier toutes les carences et traiter les effets des maladies qui découlent de la famine comme le marasme ou la

kwashiorkor (**Fox, 1999**) ;

→ Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération

;

→ Considérer comme une excellente source de vitamines B9 et B12 ainsi que de fer, la spiruline est bien adaptée aux femmes enceintes car elle leur permet d'accéder à tous les nutriments essentiels. Grâce à la phycocyanine qui augmente l'oxygénation des muscles et limite les crampes utérines, ces femmes peuvent mieux se préparer à l'accouchement et mieux récupérer par la suite après avoir pallié la fatigue causée par l'allaitement (**Evoli conseil, 2014**). ;

→ Par sa composition, la spiruline convient très bien aux enfants et adolescents ainsi qu'au bébé en âge de consommer des protéines. Son apport en éléments essentiels de qualité, ainsi que sa haute assimilabilité, sont idéaux pour les organismes en développement. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour éviter les carences et éliminer les toxines liées à la restauration rapide adorée des ados. Elle apporte également un plus sur la qualité de la peau (**Vidalo, 2015**)

;

→ Sous la loupe de la diététique, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. Agissant comme un produit coupe faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique (**Tremblin et Moreau, 2017**) ;

→ En agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la Spiruline (**Boudaoud, 2016**).

3.2.En alimentation animale

Comme pour l'homme, la spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal. Elle joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue.

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

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

3.3.En cosmétique

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

Grâce à ses propriétés anti-oxydantes qui empêchent la formation de radicaux libres, la spiruline améliore la souplesse et l'élasticité de la peau et donc retarde son vieillissement et apporte brillance et résistance aux ongles et aux cheveux par les nutriments et les oligoéléments qu'elle concentre (**Banks, 2007**). Considéré comme un aliment « beauté » d'exception, la spiruline est utilisée aujourd'hui dans les soins anti-âges à connotation marine, dans la préparation de produits de soins en spa et thalasso (masques visage, enveloppements corporels), comme soins réparateurs et fortifiants des cheveux et des ongles, en cataplasme et enveloppement marins, comme soin revitalisant pour le corps ou masque minéralisant du visage (**Casal, 2019**).

3.4.En thérapeutique

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

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

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

Partie II

Etude expérimentale

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODES

La partie expérimentale a été réalisée dans les 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 mars 2023 à mi-mai 2023.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est deux échantillons de biomasse sèche de la souche *Arthrospira platensis* cultivée dans différentes régions de X1 et X2. Le choix de cette matière biologique est principalement dû à la richesse de ce type de composés bioactifs. Nous broyons deux échantillons de spiruline avec un moulin électrique pour les poudres de spiruline. Ils ont été stockés dans des bouteilles en verre scellées pour analyse dans l'obscurité.



Figure I.6 : Spiruline en poudre cultivée dans la région X1. (photos personnelles)



Figure I.7 : Spiruline en poudre cultivée dans la région X2. (photos personnelles)

1.2. Matériel et équipement non biologiques

Il s'agit de tout matériau, autre que biologique, qui comprend la verrerie, les appareils et les réactifs chimiques et organiques utilisés dans l'étude expérimentale.

1.2.1. Criblage phytochimique

Lors du criblage phytochimique, nous avons utilisé les outils, appareils, solutions et réactifs énumérés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I.2: outils, appareils, solutions et réactifs utilisés dans les essais phytochimiques

Appareil	Solutions	outils
Concasseur électrique	Eau distillée (H ₂ O)	Matériel biologique
Balance électronique	Réactif de Fehling	Béchers
Plaque chauffante	Chlorure de fer	Entonnoir
Ph-mètre	anhydre (FeCl ₃)	Filtre à papier
	Alcool iso-amylique (C ₅ H ₁₁ OH)	Tubes à essai
	Acide acétique anhydre (CH ₃ COOH)	Support de tube à essai
	Iode (I ₂)	Pipette
	Magnésium métallique(Mg)	Spatule
	Hydroxyde de sodium	Spécimens gradués
	Acide chlorhydrique 1N(HCL)	
	Sulfate de sodium	
	anhydre	
	Méthanol (CH ₃ OH)	
	Acide sulfurique(S ₂ HO ₄)	
	Chloroforme (CHCL ₃)	

1.2.2. Extraction

Lors de l'extraction des extraits contenus dans le tableau ci-dessous, nous avons utilisé les outils, appareils et solutions qui y sont inclus.

Tableau I.3: outils, appareils et solutions utilisés pour extraire les extraits.

Appareil	Solutions	outils
La verrerie	eau distillée	Matériel biologique
centrifugeuse	méthanol	Béchers-entonnoir
précision	acétate d'éthyle	filtre à papier
blance	acétone	spatule
Balance analy-tique	dichlorome thane	ballon
spectrophoto-mètre	Tampon phosphate Ph(6.4)	Entonnoir de sépara-tion
congélateur	éthanol	Aluminium
électrique	sulfate d'ammonium saturé (NH₄)₂SO₄)	erlenmeyer
Salle de vapeur		Tubes à essai
bain-marie		
agitateur		
Échographie		
moulin		

1.2.3. Dosage quantitatif des composés phénoliques

Pour le dosage quantitatif des composés phénoliques, nous avons utilisé les outils, appareils et solutions énumérés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I.4: outils, appareils et solutions utilisés pour la détermination quantitative des composés phénoliques

Appareil	Outils	Solutions	Test	
Béchers Balance électronique	Extraits	Réactif foline-ciocalteu (10%)	Dosage des polyphénols totaux (PPT)	
Spectrophotomètre UV-visible jenway	Béchers	Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃) (7,5%)		
agitateur	tubes à essai	Acide gallique		
frigo	Support de tube	Méthanol		
centrifugeuse	essai	AIC13(2%)	Dosage de flavonoïde (FVT)	
	Les chars	Acide quercitine		
	Aluminium	Méthanol		
	thermomètre	Solution de vanilline (4% dans le méthanol)	Dosage des tanins condensés (TC)	
			chlorhydrique acide	
			concentré (HCL)	
			catéchine	
			Méthanol	
		Acétone	Chlorophylle a, b et caroténoïdes	

1.2.4 activités biologiques

1.2.4.1. Évaluation de l'activité antioxydante

Lors de l'évaluation de l'activité antioxydante, nous avons utilisé les outils, appareils et solutions énumérés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I.5: Outils, appareils et solutions utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Appareil	Outils	Solutions	Activité antioxydante
Béchers Balance électronique	Extraits		Piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)
Spectrophotomètre UV-visible jenway	Béchers	Solutions DPPH méthanolique (4 mg/100mg MeOH)	
agitateur	tubes à essai	Acide ascorbique	
frigo	Support de tube	Méthanol	
centrifugeuse	essai		
tourbillon	Les chars		
	Aluminium		
	thermomètre		

2. Méthode

2.1. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est un ensemble de techniques qualitatives qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques présents dans un organe végétal par des réactions physico-chimiques. Ces groupes comprennent les polyphénols totaux (tels que les flavonoïdes et les tanins), les coumarines, les alcaloïdes, les saponines, les stérols, les terpènes et autres. Pour effectuer le criblage phytochimique, des réactifs de caractérisation conventionnels ont été utilisés et des essais ont été effectués sur des extraits végétaux préparés en milieu aqueux (décoction, infusion) et organique (macération au méthanol). Les résultats ont été interprétés comme positifs (+) ou négatifs (-). (Lendvai et al. , 2003) .

2.1.1. Préparation des solutions pour l'analyse Préparation de la décoctée

✓ Préparation de la décoction

La décoctée de la plante est préparée en ajoutant 10g de poudre de spiruline à 100ml d'eau distillée. Le tout est bouilli pendant 15 minutes, le mélange est filtré et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée après refroidissement. (Emmanuel,2012) Les filtrats obtenus à partir de ce procédé sont représentés dans les figures ci-dessous :



Figure I.8 : Décocté à 10% des deux échantillons de spiruline de deux régions x1 et x2. (photos personnelles)

✓ Préparation du 5% infusé

Les 5% infusés sont préparés en ajoutant 5g de poudre de spiruline à 100ml d'eau distillée bouillante. Après 15 minutes, le mélange est filtré et le filtrat obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée (Carvalho Jr et al. ,2005) . Le filtrat résultant est représenté sur la figure ci-dessous :



Figure I.9 : Infusé avec 5 % des deux échantillons de spiruline provenant de deux régions X1 et X2. (photos personnelles)

✓ Préparation de la macération

Le macéré est préparé en ajoutant 10g de poudre de spiruline à 100ml de méthanol. Le mélange est macéré pendant 24 heures, puis filtré (Azzi, 2013). Le filtrat résultant est représenté sur la figure ci-dessous :

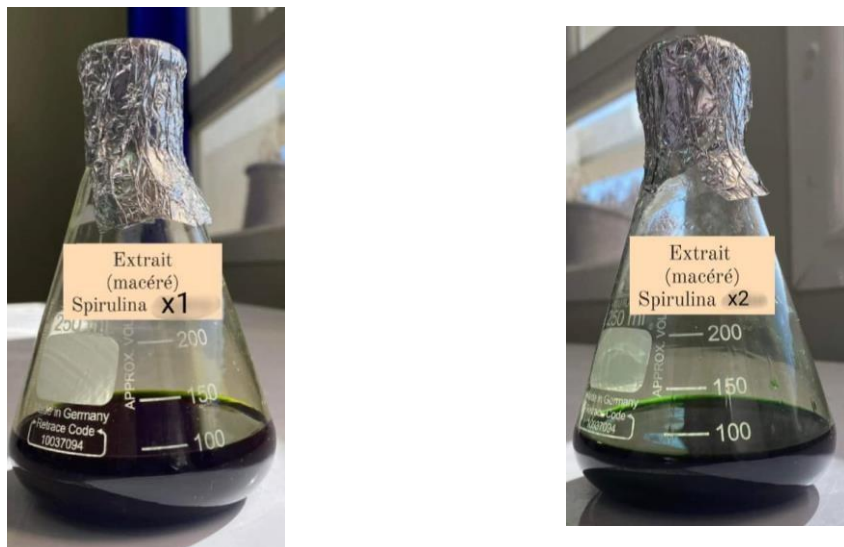


Figure I.5 : Macéré des deux échantillons de spiruline provenant de deux régions X1 et X2. (photos personnelles)

2.1.2. Test des flavonoïdes

A. Mode de opératoire

Une combinaison d'un peu de Mg^{2+} et de gouttelettes de HCl concentrées, placées dans un tube, est ajoutée à 1 ml de trempage. (Vijayakumari et al. ,2013) .

B. Expression de résultat

L'apparition de rose, d'orange ou de rouge fait référence à la présence de flavonoïdes (Vijayakumari et al. ,2013) .

2.1.3. Test des tanins

A. Mode opératoire

1 mL de chlorure ferrique (5 % de $FeCl_3$) a été ajouté à 1 mL de l'extrait de Spirulina platensis. (Vijayakumari et al. ,2013) .

B. Expression de résultat

La formation de couleur bleu foncé ou noir verdâtre indique la présence de tanins. (Vijayakumari et al. ,2013) .

2.1.4. Test des alcaloïdes

A. Mode opératoire

2 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été ajoutés à 2 ml d'extrait. Quelques gouttes de détecteur Myer ont été ajoutées. (Mane et Chakraborty, 2018)

B. Expression de résultat

La présence de dépôts verts ou blancs fait référence à la présence d'alcaloïdes (Mane et Chakraborty, 2018).

2.1.5. Test des phénols

A. Mode opératoire

À 1 ml de l'extrait, 2 ml d'eau distillée ont été ajoutés, suivis de quelques gouttes de solution de chlorure ferrique à 10%. (Mane et Chakraborty, 2018)

B. Expression de résultat

La formation de couleur bleue ou verte indique la présence de phénols (Mane et Chakraborty, 2018).

2.1.6. Test des stérols et des triterpènes

A. Mode opératoire

Pour obtenir l'extrait pour les tests, 1g de la poudre a été mélangé avec 20 ml d'éther et laissé pendant 24 heures par un processus appelé macération. Le mélange a ensuite été filtré et le volume a été porté à 20 ml avec de l'éther. Ensuite, 10 ml de l'extrait ont été évaporés à sec et le résidu a été dissous dans 1 ml d'anhydride acétique suivi de 1 ml de chloroforme. La solution résultante a été divisée en deux tubes à essai, l'un étant utilisé comme témoin. Dans le deuxième tube à essai, 1 à 2 ml de H₂SO₄ concentré ont été pipetés dans le fond. (Boutlelis, 2014)

B. Expression de résultat

Si un anneau rouge brunâtre ou violet se forme dans la zone de contact des deux liquides et que la couche surnageante devient verte ou violette, cela indique la présence de stérols et de triterpènes. (Boutlelis, 2014) .

2.1.7. Test des composés réducteurs

A. Mode opératoire

Pour effectuer le test, prenez 5 ml de décoction et évaporez-la à sec au bain-marie. Ensuite,

ajoutez 1 ml de réactif de Fehling au résidu. (Evans, 2009) .

B. Expression de résultat

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

2.1.8. Test des saponosides

A. Mode opératoire

Préparer une série de 10 tubes à essai d'un volume de 16 mm chacun et numérotés de 1 à 10. Dans chaque tube, ajoutez 1ml, 2ml, ..., 10ml de décoction, puis réglez le volume à 10ml avec de l'eau distillée. Ensuite, agitez chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, avec deux agitations par seconde. Laissez les tubes reposer pendant 15 minutes, puis mesurez la hauteur de la mousse dans chaque tube. (N'Guessan et al. ,2009) .

B. Expression de résultat

Le tube dans lequel la hauteur de mousse est de 1 cm indique la valeur de l'indice de mousse. Indice de mousse = 1000 /tube, ou la hauteur de la mousse est de 1 cm. (N'Guessan et al. ,2009)

2.2. Extraction de composés phénoliques

2.2.1. Préparation d'extraits phénoliques totaux

Dans cette étude, la méthode de macération a été utilisée, qui est largement reconnue et utilisée par les phytochimistes. La macération est une technique d'extraction solide-liquide qui consiste à immerger un échantillon biologique dans un solvant, à froid ou à chaud, pour extraire les composants solides ou liquides présents dans la matière naturelle. Par dissolution dans le solvant à température ambiante, les espèces ou molécules souhaitées sont extraites de la matière biologique. (Belleb-cir, 2008).

On place 3g de matière biologique (*Arthrospira platensis*) dans un Erlenmeyer avec 150 ml de méthanol, pendant 24 h, après filtration, les solutions de méthanol sont évaporées à sec sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 50°C (Matkowski et Piotrowska, 2006).

2.2.2. Extraction des flavonoïdes

Dans le processus d'extraction d'*Arthrospira platensis*, 3 g de la matière biologique ont été placés dans un erlenmeyer avec 150 ml de méthanol pendant 24 heures. Le mélange obtenu a

ensuite été filtré et la solution de méthanol a été évaporée sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à 60°C pour obtenir des résidus secs. Les résidus secs obtenus ont été soumis à une séparation liquide-liquide utilisant de l'acétate d'éthyle comme solvant. Les résidus secs ont été mélangés avec 150 ml d'acétate d'éthyle et le même volume d'eau distillée, ce qui a permis aux deux phases de se séparer. La phase acétate d'éthyle a été récupérée et la phase aqueuse a été soumise à une autre séparation liquide-liquide avec 150 ml d'acétate d'éthyle. Une fois de plus, la phase acétate d'éthyle a été récupérée et combinée avec la phase d'acétate d'éthyle obtenue précédemment. Les phases combinées d'acétate d'éthyle ont été séchées à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à 60 °C, ce qui a donné la fraction acétate d'éthyle. (Bek-kara et al. ,1998) (Modifié)

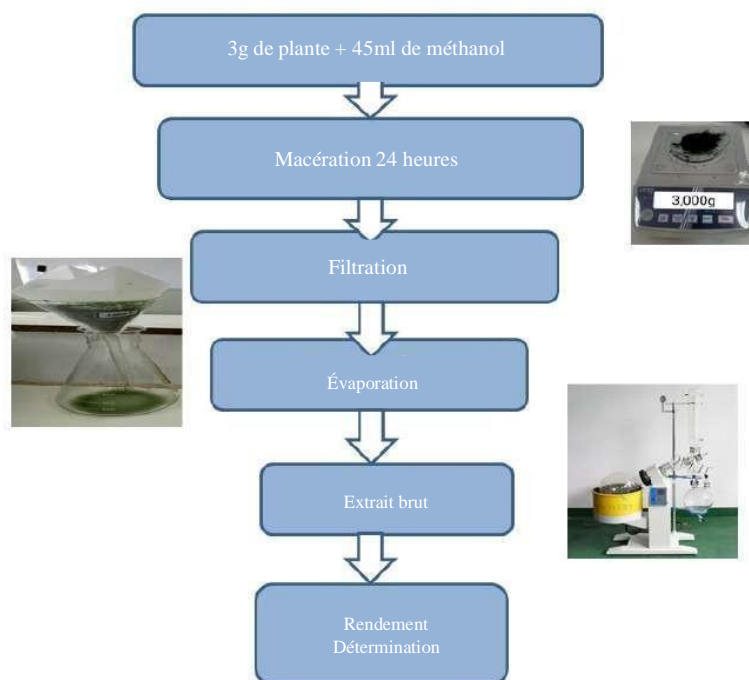


Figure I.10: Protocole d'extraction des extraits phénoliques totaux. (Modifié). (Matkowski et Piotrowska, 2006).

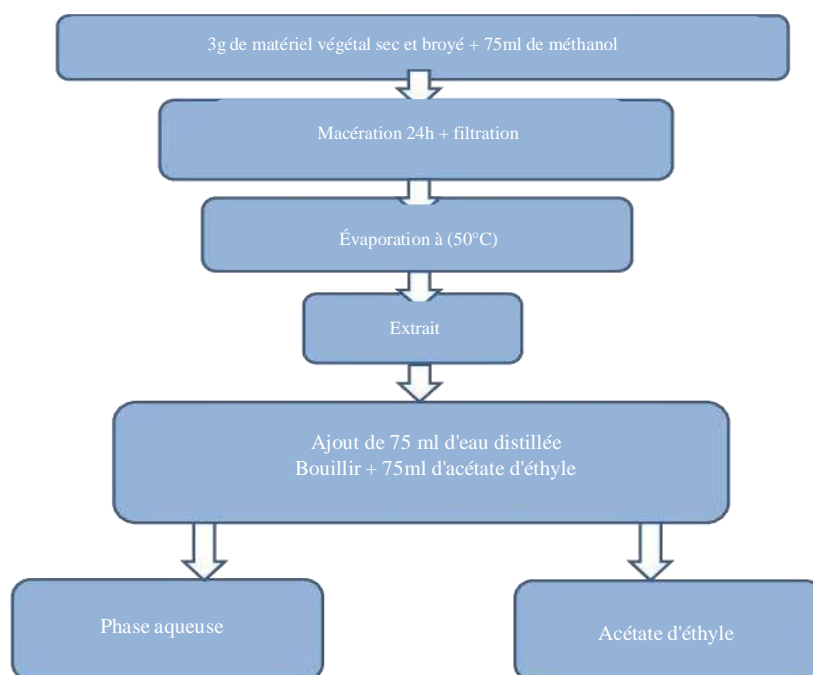


Figure I.11 : Protocole d'extraction des flavonoïdes. (Modifié). (Bekkara et al. ,1998)

2.2.3. Extraction des tanins

Tanin dans le procédé d'extraction, 10g de poudre organique *d'Arthrospira platensis* a été mélangé avec 145 ml d'un mélange contenant de l'acétone et de l'eau distillée dans un rapport de 102:43 (V/V). Le mélange a été laissé à température ambiante pendant trois jours. Après la période d'extraction, la solution a été filtrée pour éliminer toutes les particules solides. La solution résultante a ensuite été soumise à une évaporation à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant acétonique, laissant derrière la phase aqueuse.

Pour éliminer les pigments et les lipides, la phase aqueuse a été lavée avec 150 ml de dichlorométhane. La phase organique et la phase aqueuse ont été séparées, la phase organique contenant les composants extraits d'intérêt.

Ensuite, la phase aqueuse a été soumise à deux extractions supplémentaires utilisant à chaque fois 150 ml d'acétate d'éthyle. Ce processus visait à extraire davantage les composés souhaités dans la phase organique.

La phase organique obtenue à partir des extractions a été évaporée à sec à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, ce qui a permis d'obtenir le produit désiré sous une forme sèche. (Zhang et al., 2008)

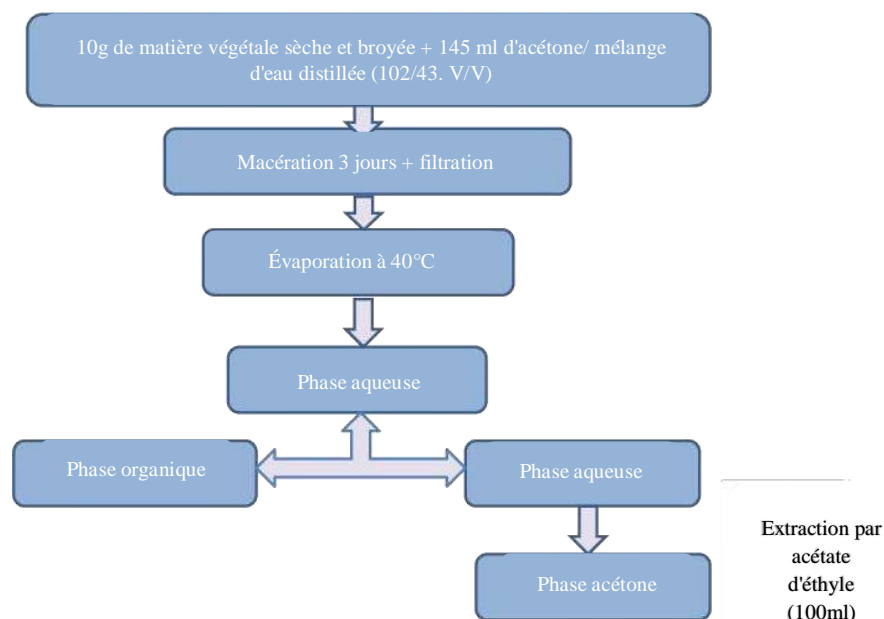


Figure I.12 : Protocole d'extraction des tanins. (Modifié). (Zhang et al., 2008)

2.2.4. Extraction par sonification

A. Principe

De cette façon, l'explosion cellulaire se produit en perturbant des parties de la paroi cellulaire ou la cellule entière pour libérer des molécules biologiques.

B. Mode opératoire

1. 10 mg de spiruline sont mis en suspension dans 100 ml de tampon phosphate.
2. La solution est activée par ultrasons E 3010 NA pendant 5 min.
3. Centrifugation (3000tr/45min à 4°C).
4. Le surnageant est retiré et 100 ml de tampon sont ajoutés à nouveau à la base.
5. Il est remis sur l'échographie pendant 2-3 min.
6. Puis centrifuger pour reprendre le surnageant.

C. Expression des résultats

Mélanger avec le premier et mesurer les absorbances à 615, 652, 620 et 280 nm. Le taux (%) de phycocyanine est calculé selon la formule de **(Bennett et Bogorad, 1973)**.

$$PC = [abs_{615} - 0,474 \times abs_{652}] / 5,34$$

La pureté de la phycocyanine est déduite selon la formule : Ab_{620}/Ab_{280} **(Bennett et Bogorad, 1973)**. Avec:

7. Ab à 620 nm indiquant la concentration de phycocyanine
8. Ab à 280 nm indiquant la concentration totale en protéines.

2.3. Extraction par congélation

A. Principe

Pendant les cycles de congélation, la formation de cristaux de glace peut constituer une menace pour l'intégrité des membranes cellulaires, en particulier dans le cas des protéines bactériennes ou des enzymes. Le

Le processus de congélation peut provoquer la formation de cristaux de glace dans les cellules, entraînant la désintégration de la membrane cellulaire. Ce phénomène peut finalement entraîner des dommages ou la destruction des cellules.

B. Mode opératoire

1. Mettre 100 mg d'algues sèches dans un tampon de 200 ml.
2. La solution subit des cycles de congélation/décongélation (congélation à -20°C) jusqu'à ce que les cellules éclatent.
3. La solution résultante subit une première centrifugation.
4. Au surnageant, on ajoute 20 % de sulfate d'ammonium saturé $((\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4)$,
5. Laisser reposer pendant 2 heures.
6. Après une deuxième centrifugation, 45% de sulfate d'ammonium saturé est ajouté au surnageant.

C. Expression des résultats

Enfin, une troisième centrifugation est effectuée directement et la base est récupérée. Les lectures spectrophotométriques sont prises à des absorbances de 615 nm, 620 nm, 652 nm et 280 nm. $PC (mg/ml) = (Abs_{615} - 0,474 Abs_{652}) / 5,34$ La pureté de la phycocyanine est calculée à l'aide du for- mula Ab_{620}/Ab_{280} (**Bennett et Bogorad, 1973**). Avec:

7. Ab à 620 nm indiquant la concentration de phycocyanine
8. Ab à 280 nm indiquant la concentration totale en protéines.

2.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est défini comme le rapport entre le poids de l'extrait obtenu après extraction et le poids de la poudre utilisée. (**Wizi et al. ,2022**) Il est calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement}(\%) = \text{Masse d'extrait} / \text{Masse de samble utilisée} \cdot 100$$

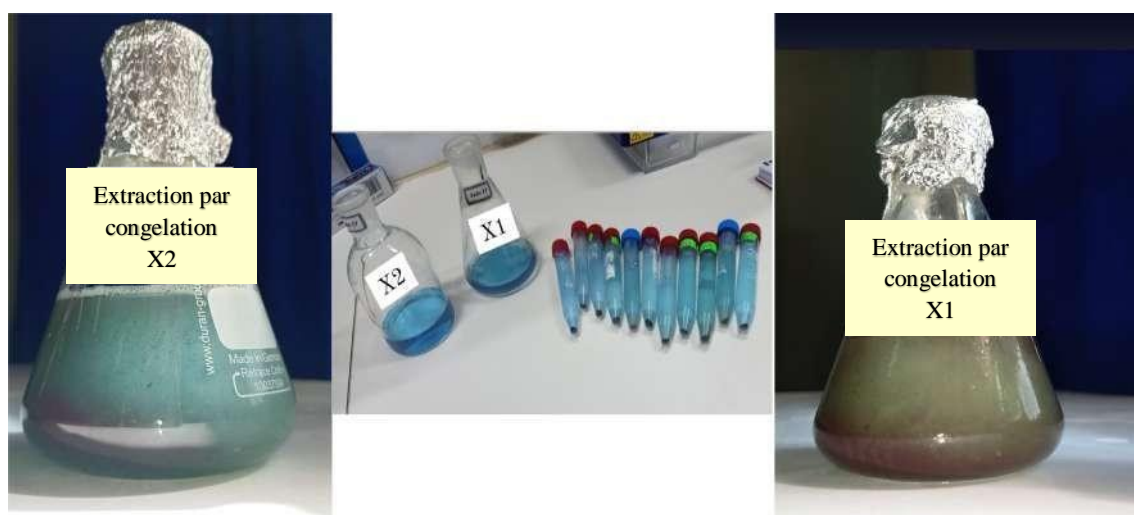


Figure I.13 : Extraction par congélation dans différentes régions de spiruline X1 et X2.

(Photos personnelles)

2.5. Dosage des composés phénoliques

2.5.1. Dosage de phénolique total

A. Principe

La teneur totale en polyphénols dans les différents extraits est évaluée à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu, telle que décrite dans la méthodologie décrite par (Yap et al., 2009). La méthode Folin-Ciocalteu repose sur le principe de l'utilisation d'un réactif connu comme le réactif Folin-Ciocalteu, qui est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Cette méthode repose sur l'oxydation des phé-

Composés liques présents dans l'échantillon, ce qui conduit à la réduction simultanée de l'acide phospho-molybdique

Le réactif Folin-Ciocalteu présente une modification de ses propriétés colorimétriques lorsqu'il forme des complexes avec des molécules spécifiques. Ce réactif réagit avec les groupes fonctionnels hydroxyle (OH) présents dans les composés phénoliques, conduisant à la formation d'une coloration bleu foncé. Pour quantifier la concentration de polyphénols, une courbe d'étalonnage est construite à l'aide des concentrations connues de polyphénols, telles que décrites par (Khatabi et al., 2016).

Dans la procédure décrite par (Nabti et Belhatab, 2016), la concentration de polyphénols totaux dans les extraits de méthanol est déterminée à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu.

B. Mode opératoire

Les étapes de la procédure sont les suivantes: Initialement, 0,2 ml de la solution brute d'extraction est combiné avec 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu, qui a été dilué 10 fois. Après avoir laissé une période d'incubation de 5 minutes, 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% est ajouté au mélange. La solution résultante est ensuite incubée pendant 30 minutes, à l'abri de la lumière pour éviter toute réaction potentielle induite par la lumière.

C. Expression des résultats

1. Pour quantifier la concentration de polyphénols totaux, l'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 765 nm. Parallèlement, une série de solutions étalons d'acide gallique avec des concentrations allant de 0,01 mg / ml à 0,12 mg / ml est préparée. Ces solutions étalons servent de référence pour estimer les composés phénoliques totaux dans les extraits de méthanol.

2. À l'aide de la courbe d'étalonnage générée à partir des valeurs d'absorbance des

étalons d'acide gallique, la concentration de polyphénols totaux dans l'extrait est déterminée. La concentration est exprimée en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme de l'extrait, ce qui fournit une mesure normalisée de la teneur en polyphénols (**Khosravi et al. , 2013**).

2.5.2. Dosage des flavonoïdes

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

A. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupe hydroxyle libre (OH) en position 5, qui a le potentiel de former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) par interaction avec le groupe car-bonyl (CO). Cette complexation entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium entraîne la formation de complexes de couleur jaunâtre due au phénomène de chélation des métaux. En exploitant cette propriété, un test colorimétrique peut être utilisé pour détecter et quantifier la teneur totale en flavonoïdes dans un échantillon. (**Chang et al. , 2002**)

Le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) a la capacité de former des complexes très stables avec les groupes hydroxyle (OH) des phénols. Cette réaction conduit à la formation d'un complexe coloré qui présente une absorption de la lumière visible à une longueur d'onde spécifique de 430 nm. (**Ribereau-Gayon, 1968**)

B. Mode opératoire

Pour établir une référence pour la quantification des flavonoïdes, un ensemble de solutions étalons Dans le procédé d'estimation de la concentration en flavonoïdes dans l'extrait de méthanol, un volume de 0,5 ml de la solution d'extrait est combiné avec 0,5 ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% ($AlCl_3$). Le mélange résultant est ensuite incubé pendant 1 heure, à l'abri de la lumière pour éviter toute réaction induite par la lumière. (**Mbaebie et al. ,2012**)

C. Expression des résultats

Après la période d'incubation, l'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. contenant de l'acide quercitine à des concentrations allant de 0,01 mg/ml à 0,12 mg/ml est préparé. Ces solutions étalons servent de courbe d'étalonnage à laquelle l'absorbance de l'échantillon peut être comparée. La concentration en flavonoïdes dans l'extrait est exprimée en milligrammes d'équivalent acide quercitine par gramme d'extrait, ce qui permet une mesure et une comparaison normalisées de la teneur en

flavonoïdes. (Mbaebie et al. ,2012)

2.5.2. Dosage des tanins condensés

A. Principe

La méthode de dosage des tanins condensés dans les extraits de *Salvia chudaei* la procédure décrite par Schofield et al. en 2001. Cette méthode repose sur la réaction entre le groupe vanilline aldéhydique et le carbone 6 du cycle A de la catéchine, aboutissant à la formation d'un complexe chromophore rouge. Ce complexe présente une absorption de la lumière à une longueur d'onde de 500 nm. En mesurant l'absorbance à cette longueur d'onde spécifique, la concentration de tanins condensés dans les extraits de *Salvia chudaei* peut être déterminée. (Schofield et al. ,2001).

B. Mode opératoire

Dans le dosage des tanins condensés, 400 μ l de chaque échantillon ou étalon sont combinés avec 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol) et 1,5 ml d'hy-acide drochlorique. Le mélange résultant est incubé pendant 15 minutes, ce qui permet à la réactivité de se produire. (Schofield et al. ,2001)

C. Expression des résultats

Après la période d'incubation, l'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette mesure fournit des informations sur la concentration de tanins condensés dans les échantillons ou les étalons. (Schofield et al. ,2001) Les concentrations de tanins condensés sont déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage générée avec des étalons de catéchine allant de 0 à 0,5 mg/ml. Ces concentrations sont ensuite exprimées en milligrammes d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (Mg Ec/g E), ce qui permet de comparer la teneur en tanin condensé de différents échantillons. (Schofield et al. ,2001).

2.5.3. Pigments Chlorophylle a, b et caroténoïdes

A. Principe

L'isolement de nouveaux produits de dégradation de la chlorophylle reste l'étape clé dans la compréhension des mécanismes du phénomène de dégradation de la chlorophylle. C'est pourquoi il sera intéressant d'essayer de détecter, isoler et caractériser une (ou plusieurs) catabolique(s) présente(s) dans les échantillons de spiruline.

B. Mode opératoire

La chlorophylle a, b et les caroténoïdes ont été déterminés selon la méthode modifiée décrite par (El-Sheekh et al. ,2009) La procédure a comporté les étapes suivantes :

1. Dans ce processus, un échantillon de gramme de spiruline est mis en suspension dans 50 ml d'acétone 90.
2. Agiter vigoureusement avec un agitateur magnétique (Stuart stir SB161, UK).
3. Les solutions ont ensuite été placées dans l'obscurité à 4°C et centrifugées à 3900(x g) pendant 15 minutes.

C. Expression des résultats

Les surnageants obtenus ont été utilisés pour déterminer la concentration de chlorophylle a (chl_a), de chlorophylle b (chl_b) et de caroténoïdes totaux (Car) en mesurant l'absorbance aux longueurs d'onde 663,2, 646,8 et 470 nm. La densité optique est lue avec un spectrophotomètre UV/Visible (Jenway Genova plus, Staffordshire, Royaume-Uni). La teneur (mg/g) de chaque pigment était la quantité à l'aide d'équations (01-03). (Soni et al. ,2018) :

Équation 01

$$\text{Chla} = 12.25.A_{663.2} - 2.79.A_{646.8}$$

. Équation 02

$$\text{Chlb} = 21.5.A_{646.8} - 5.1.A_{663.2}$$

. Équation 03

$$\text{Voiture} = (1000 \cdot A_{470} - 1.82\text{Chla} - 85.02\text{Chlb})/198$$

OÙ : A663.2, A646.8 et A470 sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde 663,2,646,8 et 470 nm. (Soni et al. ,2018)

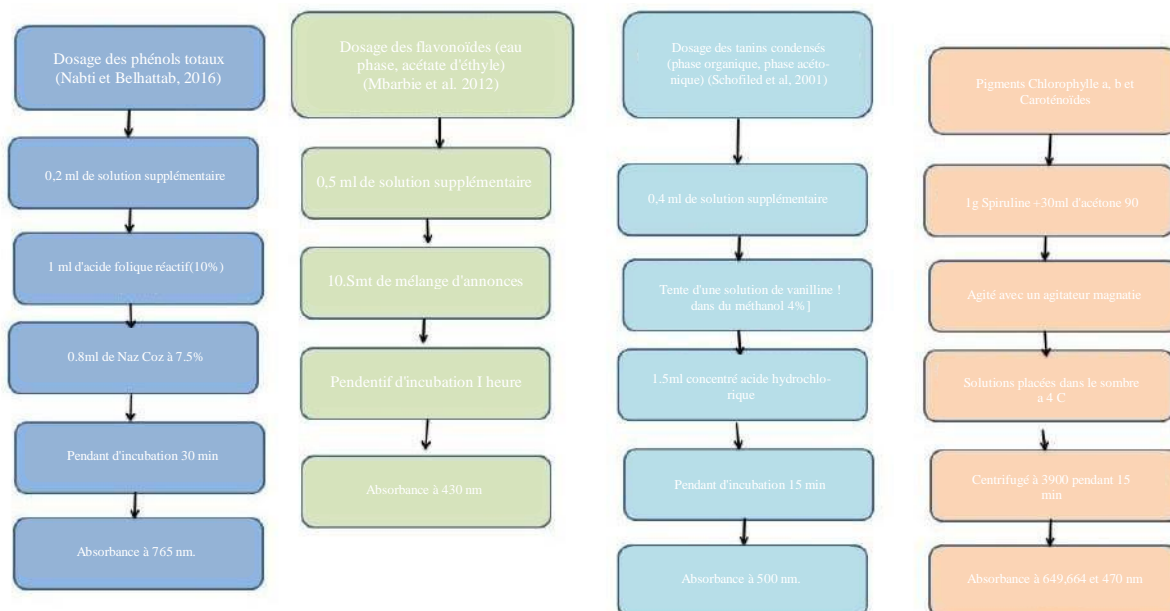


Figure I.14: Protocole pour les doses de composés phénoliques et flavonoïdes totaux et de tanins condensés porcheries chlorophylle A,B et caroténoïdes. (Modifié) (Schofield et al. ,2001).

2.6. Study of biological activity

2.6.1. Activité antioxydante

Pour estimer l'activité antioxydante des extraits testés, Mesure de la capacité de l'échantillon à déplacer les radicaux à l'aide de la racine DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

2.6.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH

A. Principe opératoire de DPPH

Le radical DPPH, qui signifie 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, est une substance solide de couleur noir-violet. Cependant, lorsqu'il est stabilisé, il présente une couleur orange jaunâtre. La stabilité du radical DPPH est attribuée à la présence de cycles aromatiques dans sa structure, qui permettent de multiples formes résonnantes. Cette résonance délocalise les électrons, les empêchant d'être confinés à un seul endroit. En conséquence, le radical DPPH reste stable pendant plusieurs jours, présentant sa couleur caractéristique. (Mbaebiet al. ,2012).

B. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH

Le test DPPH repose sur la capacité des extraits à donner des atomes d'hydrogène au radical libre DPPH, ce qui entraîne sa réduction. La réduction du radical DPPH peut être surveillée à l'aide d'un spectrophotomètre en mesurant la diminution de l'absorption à une longueur d'onde spécifique. Cette diminution de l'absorption indique la capacité des extraits à inhiber ou à piéger le radical libre DPPH. En quantifiant la réduction de l'absorption, nous pouvons évaluer la capacité antioxydante des extraits et déterminer leur efficacité dans l'inhibition du radical libre DPPH. (Ardestani et Yazdanparast, 2007)

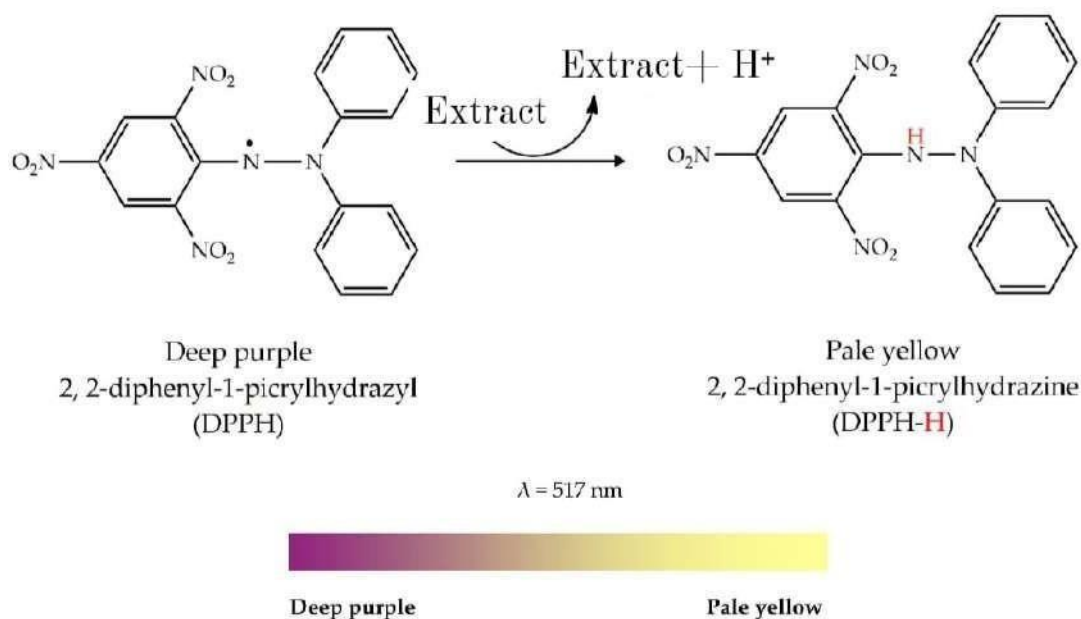


Figure I.15 : Réaction chimique DPPH (Ardestani et Yazdanparast, 2007)

C. Préparation de la solution DPPH:

Préparer la solution concentrée de DPPH (0,4Mol/ml) en dissolvant 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. (Belguidoum et al. ,2015)

✓ Préparation des concentrations

Pour préparer l'extrait original, on prend 0,05 g de l'extrait réfléchi et on dissout dans 10 ml d'un mélange d'eau et de solvant éthanolique pour obtenir une solution mère de 5 mg/ml. À partir de cette solution mère, d'autres concentrations diluées ont été préparées en ajoutant de l'éthanol supplémentaire à l'extrait d'éthanol et en ajoutant de l'eau à l'extrait d'eau, selon les

ratios spécifiés. (Belguidoum et al. ,2015)

$$C1V1=C2V2$$

✓ Méthode de travail

L'activité antioxydante des extraits d'eau et d'éthanol est déterminée en évaluant leur capacité à piéger les radicaux libres DPPH. Pour mesurer cette activité, différentes concentrations d'éthanol et d'extraits aqueux sont préparées. La procédure implique un mélange

On utilise 1 ml de chaque extrait à des concentrations comprises entre 0,001 et 1 mg/ml avec 2 ml d'une solution de DPPH à une concentration de 0,177 M.

✓ Calculer le taux d'inhibition de I% pour la racine libre de DPPH

Le taux d'inhibition des racines libres DPPH pour diverses concentrations d'extraits de plantes et d'acide ascorbique est calculé selon la formule suivante:

$$I\%=(A0 - Ai)/A0 \cdot 100$$

(I%) : taux d'inhibition.

A0 : Représente l'absorption du témoin.

Ai : représente l'absorption de l'échantillon.

À l'aide de Microsoft Excel, nous pouvons créer un graphique illustrant la courbe d'inhibition en pourcentage. En analysant cette courbe, nous pouvons déterminer la concentration de l'extrait nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition des radicaux DPPH. Cette concentration est appelée la valeur IC50, qui représente la concentration nécessaire pour inhiber 50% des radicaux libres. (Belguidoum et al. , 2015)

Pour calculer la valeur de CI50, nous utilisons l'équation dérivée de la courbe de variation du taux d'inhibition (I%) par rapport à la concentration des extraits. La valeur CI50 est la concentration à laquelle le taux d'inhibition est de 50%. En identifiant la concentration correspondante sur l'axe des x du graphique où la courbe coupe la marque d'inhibition de 50% sur l'axe

des y, nous pouvons déterminer la concentration de l'extrait nécessaire pour une inhibition de 50% des radi- cales DPPH. **(Belguidoum et al. ,2015)**

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Criblage phytochimique

Une étude chimique préliminaire a été effectuée et divers métabolites secondaires ont été identifiés. Les tests de détection chimique comprennent la détection des différents composés actifs présents dans la spiruline X1 et X2 présentés dans le tableau 6 par des tests de réaction qualitatifs, et ces réactions dépendent soit de la formation d'un précipité, soit d'un changement de couleur au moyen de réactifs spécifiques à chaque famille de composés actifs.

Tableau II.6: Résultats de la détection des composants actifs de la spiruline provenant de deux régions différentes (X1 et X2) pour l'extrait décocté.

Extraire	Décocté		L'infusé		Macéré		Sonification		Congélation		Phénolique total	
	X1	X2	X1	X2	X1	X2	X1	X2	X1	X2	X1	X2
Métabolites												
Flavonoïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tanins	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloïdes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phénols	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Composés réducteurs	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
Saponosides	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
Stérols et triterpènes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1.1. Description

La spiruline est un aliment aux qualités nutritionnelles élevées grâce à la diversité et à la richesse de ses ingrédients, elle semble présenter plusieurs activités biologiques, le criblage phytochimique des extraits révèle (décoctés, infusés, macérés, sonification, congélation, phénolique total) à partir des deux échantillons de spiruline X1 et X2 la présence de cinq grands groupes chimiques, à savoir les tan- nins, flavonoïdes, stérols et triterpènes, alcaloïdes et phénols dans tous les extraits des deux échantillons de spiruline X1 et X2.

L'apparition de Saponoside dans l'extrait infusé et congelé dans des échantillons de Spiruline X1 et X2. le reste des extraits décoctés, Sonification, Phénolique Total, Macéré dans l'échantillon de Spiruline X2.

Quant au composé réducteur, il apparaît dans l'extrait macéré de l'échantillon de spiruline X1 et X2. Et extrait de congélation, décocté, sonification, infusé dans l'échantillon de spiruline X1. et extrait phénolique total dans l'échantillon de spiruline X2.

1.2. Discussion

Détection positive de cinq grands groupes chimiques – tanins, flavonoïdes, stérols et triterpènes, alcaloïdes et phénols – dans tous les extraits d'échantillons de spiruline X1 et X2, et ces résultats sont en accord avec les travaux de **(Mane et Chakraborty, 2018)**. Ces résultats contredisent les travaux de **(Kwei,2012)**

Sonification dans l'échantillon de spiruline X1, et congélation de l'extrait dans l'échantillon de spiruline 2. L'apparition de Saponoside dans l'extrait infusé et congelé dans des échantillons de Spiruline X1 et X2. le reste des extraits décoctés, Sonification, Phénolique Total, Macéré dans l'échantillon de Spiruline X2. Quant au composé réducteur, il apparaît dans l'extrait macéré de l'échantillon de spiruline

X1 et X2. et extrait de congélation, décocté, sonification, infusé dans l'échantillon de spiruline X1. et extrait phénolique total dans l'échantillon de spiruline X2.

Ces résultats sont cohérents avec les travaux de **(Kwei, 2012)** et **(Ali et al. ,2017)**.

2. Rendement des extraits obtenus

Les valeurs obtenues à partir du rendement des différents extraits sont représentées dans le Histogramme suivant.

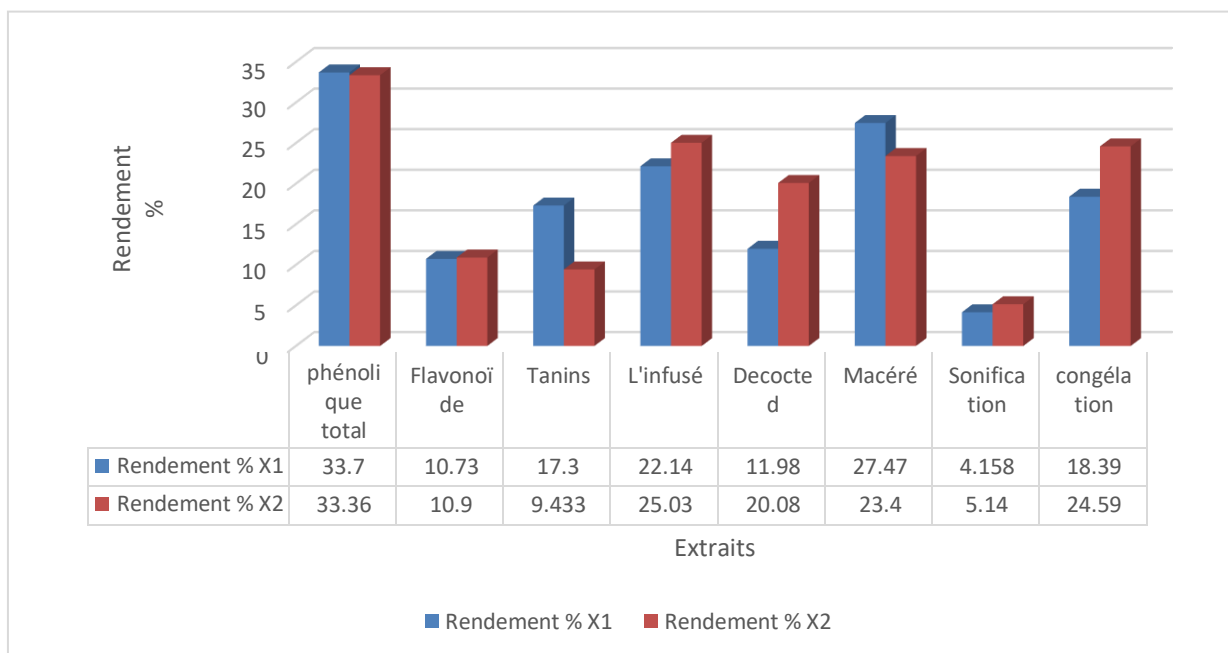


Figure II.16: Rendements en extraits de spiruline (X1 et X2).

2.1. Description

Après avoir affiché les résultats des valeurs de rendement sur la figure 6, nous constatons que l'extrait phénolique total donne des valeurs de rendement plus élevées que les autres extraits, où l'échantillon de spiruline X1 (33,7%) contient les valeurs de rendement les plus élevées et l'échantillon de spiruline X2 (33,36%) a les valeurs de rendement les plus faibles.

Et l'extrait flavonoïde, nous trouvons la valeur de rendement la plus élevée dans l'échantillon de spiruline X2 (10,9 %) et le plus faible dans l'échantillon de spiruline X1 (10,73 %).

Pour l'extrait de tanins, nous trouvons la valeur de rendement la plus élevée dans l'échantillon de spiruline X1 (17,3%) et la valeur la plus faible dans l'échantillon de spiruline X2 (9,433%).

Pour l'extrait de sonification, nous constatons que l'échantillon de spiruline X2 (5,14 %) fournit les valeurs de rendement les plus élevées contrairement à la spiruline X1 inférieure (4,158 %).

Quant à l'extrait infusé de l'échantillon de spiruline X2 (25,03 %), il a la valeur de rendement la plus élevée, contrairement à la spiruline X1 (22,14 %) qui a le rendement le plus faible.

L'extrait décocté de l'échantillon de spiruline X1 (11,98 %) était inférieur à celui de l'échantillon de spiruline X2 (20,08 %) qui fournissait une valeur de rendement plus élevée.

En ce qui concerne l'extrait macéré, l'échantillon de spiruline X1 (27,47 %) contient les valeurs de production les plus élevées, et l'échantillon de spiruline X2 (23,40 %) a la valeur la plus faible.

En tant qu'extrait de congélation, l'échantillon de spiruline X2 (24,95 %) a les valeurs de rendement les plus élevées, tandis que l'échantillon de spiruline X1 (18,39 %) a les valeurs de rendement les plus faibles.

En ce qui concerne l'extrait flavonoïde (phase aqueuse), l'échantillon de spiruline X2 (4,008 %) a les valeurs de rendement les plus élevées, tandis que l'échantillon de spiruline X1 (3,65 %) a les valeurs de rendement les plus faibles.

L'extrait flavonoïde (phase acétate d'éthyle), l'échantillon de spiruline X1 (2,024 %) a les valeurs de rendement les plus élevées, tandis que l'échantillon de spiruline X2 (1,04 %) a les valeurs de rendement les plus faibles.

L'extrait de tanins (phase organique), l'échantillon de spiruline X1 (9,81 %) a les valeurs de rendement les plus élevées, tandis que l'échantillon de spiruline X2 (3,08 %) a les valeurs de rendement les plus faibles.

L'extrait de tanins (phase aqueuse), l'échantillon de spiruline X2 (14,31 %) a les valeurs de rendement les plus élevées, tandis que l'échantillon de spiruline X1 (6,69 %) a les valeurs de rendement les plus faibles.

2.2. Discussion

A travers la figure 6, qui montre les valeurs productives des extraits de spiruline samples X1 et X2, le rendement de l'extrait phénolique total atteint la valeur la plus élevée que les autres extraits par la méthode d'extraction au méthanol. . pour les rènes de deux échantillons de spiruline X1 et X2. Où nous trouvons Spiruline X1 a les valeurs de rendement les plus élevées dans les extraits phénoliques totaux 33,7% et Macerated 27,47%, tanins 17,3%, flavonoïdes (phase acétate d'éthyle) 2,024%, ainsi que spiruline X2 ont les valeurs de rendement les plus élevées dans les extraits de flavonoïdes 10,9%, le perfusé 25,03%, décocté 20,08%, sonification 5,14%, congélation 24,59%, flavonoïdes (phase aqueuse) 4,008%, et les tanins (phase aqueuse) 14,31%. Cela concorde avec les travaux de (Konkon et al. , 2006) et (Mahmoudi et al. ,2013) avec des résultats approximatifs . Par rapport aux résultats de notre étude, nous trouvons des différences en fonction de divers facteurs tels que: la nature du solvant utilisé dans l'extraction, le

pH, la température, le temps d'extraction et la nature chimique de l'échantillon étudié. (Ali et al., 2017)

3. Analyse quantitative des composés phénoliques

3.1. Détermination du phénolique total

Les résultats obtenus à partir de l'analyse sont exprimés en microgrammes d'équivalent acide gallique (GA) par gramme d'extrait ($\mu\text{g} \text{EAG/g Ex}$). Cette mesure a été déterminée à l'aide de l'équation de régression linéaire dérivée de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (comme le montre la figure ci-dessous).

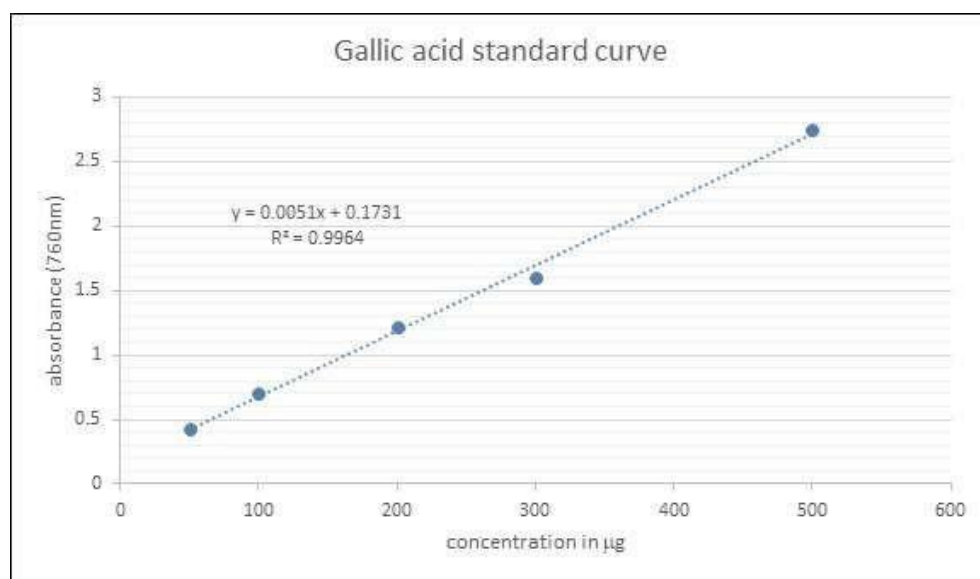


Figure II.17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la détermination des polyphénols totaux.

3.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes a été effectuée à l'aide de la méthode colorimétrique décrite par (Bouba A et al., 2010). La quercétine a été utilisée comme étalon et une courbe d'étalonnage a été générée.

En fonction de ses concentrations. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine (Qu) par gramme d'extrait. La courbe d'étalonnage, telle qu'illustrée à la figure ci-dessous, a été utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes.

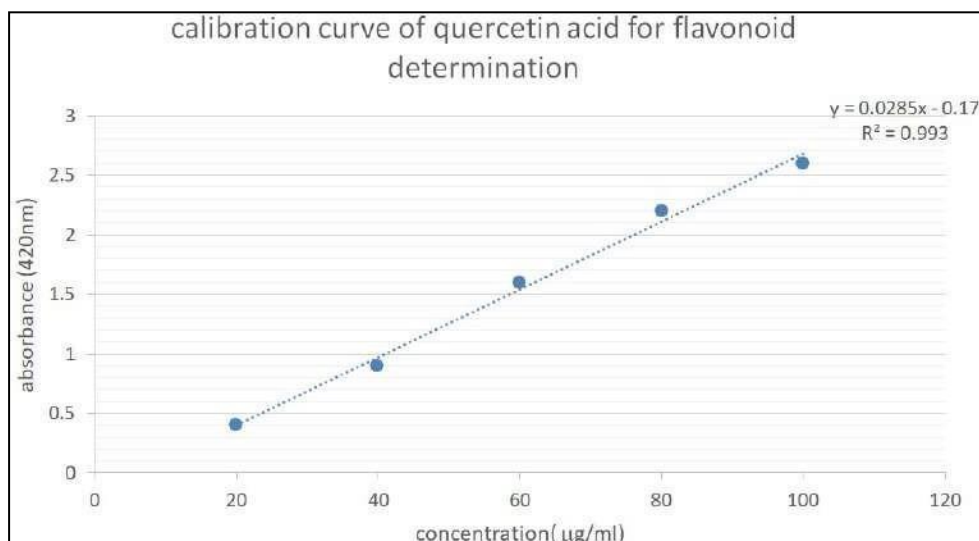


Figure II.18 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la détermination des flavonoïdes.

3.3. Détermination des tanins condensés

La quantification du tanin a été réalisée à l'aide d'une méthode adaptée de (Schofield et al. , 2001). Une courbe d'étalonnage a été générée en utilisant la catéchine comme étalon. Les résultats sont présentés en milligrammes équivalents de catéchine par gramme d'extrait (Mg EC/g E). La teneur en tanin de l'extrait a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage (comme indiqué sur la figure ci-dessous).

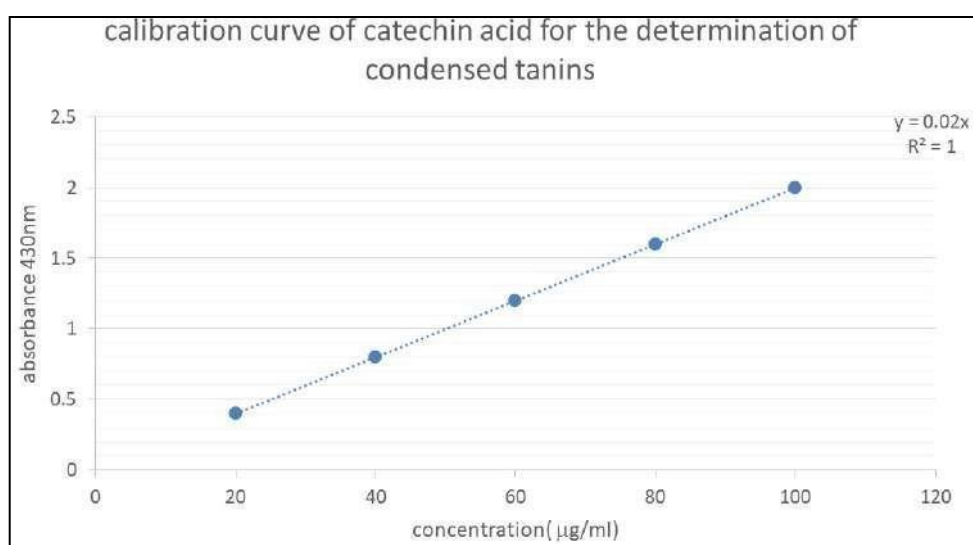


Figure II.19: Courbe d'étalonnage de l'acide catéchine pour le dosage des tanins condensés.

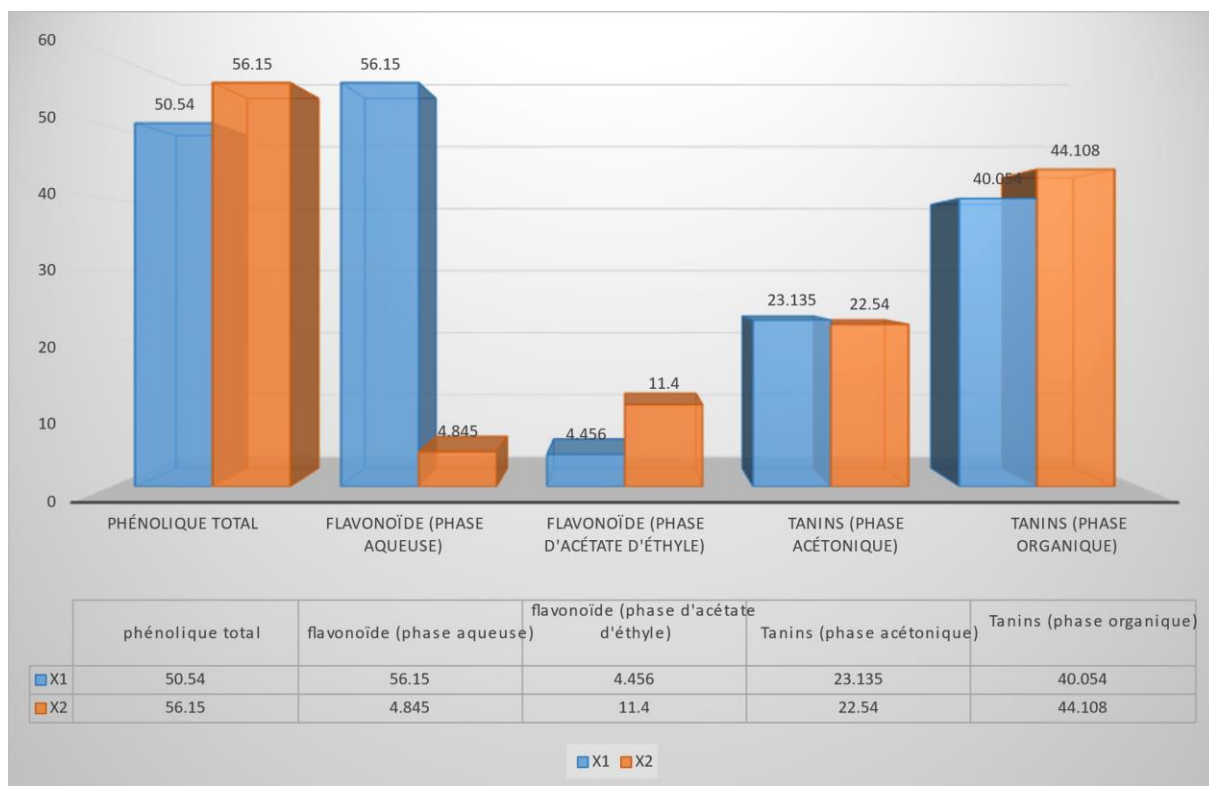


Figure II.20 : Histogramme basé sur les mesures des extraits de spiruline X1 et X2.

3.3.1. Description

Grâce aux résultats énumérés à la figure II.5, qui représentent la quantification des phénoliques, flavonoïdes et tanins totaux dans l'équivalent mg d'acide gallique, de quercétine et de catéchine, respectivement, par gramme de poids d'extrait, il a été noté que la quantité de phénolique total dans la spiruline X2 (56,15 mg / g) est supérieure à X1 (50,45 mg / g).

Quant à la quantité de flavonoïdes (phase aqueuse) dans la spiruline X1 (10,36 mg / g) est supérieure à X2 (4,845 mg / g), et dans (phase acétate d'éthyle) Spiruline X2 (11,4 mg / g) est supérieure à X1 (4,456 mg / g).

Et pour les tanins (phase acétonique) dans la spiruline X1 (23,135 mg / g) est supérieur à X2 (22,54 mg / g). Et en (phase organique), nous constatons que la spiruline X2 (44,108 mg / g) est supérieure à X1 (40,054 mg / g).

3.3.2. Discussion

Il s'avère que la spiruline X2 contient plus de phénolique total. Cela concorde avec les travaux de (Benahmed-Bouhafsoun et al. 2015) avec des résultats similaires.

Et les flavonoïdes (phase aqueuse) dans la spiruline X1 plus élevée, et dans (phase acétate d'éthyle) dans la spiruline X2 supérieure. Cela concorde avec les travaux de (**Dianursanti et al. 2020**) avec des résultats similaires.

Dans les tanins (phase acétonique), nous constatons que la valeur de chacune des spirulines X1 et X2 est proche, et dans la (phase organique), nous constatons que la spiruline X2 est plus élevée. Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par (**Hetta et al. ,2014**) .

D'après les résultats, cette différence peut être liée à la distribution des métabolites secondaires, au stress environnemental, ainsi qu'à la forte lumière du soleil et au type de solvant.

La valeur la plus élevée d'extrait phénolique total a été enregistrée dans la spiruline X2 parmi les autres extraits par extraction au méthanol.

3.4. Teneur en phycocyanine

Les concentrations de phycocyanine obtenues pour les trois échantillons (X1, X2) selon les différentes méthodes d'extraction sont indiquées dans le tableau II.8.

Tableau II.8: Valeurs de concentration et de pureté de la spiruline X1, X2 selon le mode d'extraction.

Méthodes d'extraction	Concentration de biomasse sèche de spiruline		degré de pureté	
	X1	X2	X1	X2
Échantillons				
congélation	0.06	0.093	2.263	2.42
sonfication	0.037	0.022	1.56	2.8

Nous avons regroupé les différents rapports de concentration et de pureté selon les méthodes d'extraction des figures II.6 et II.7.

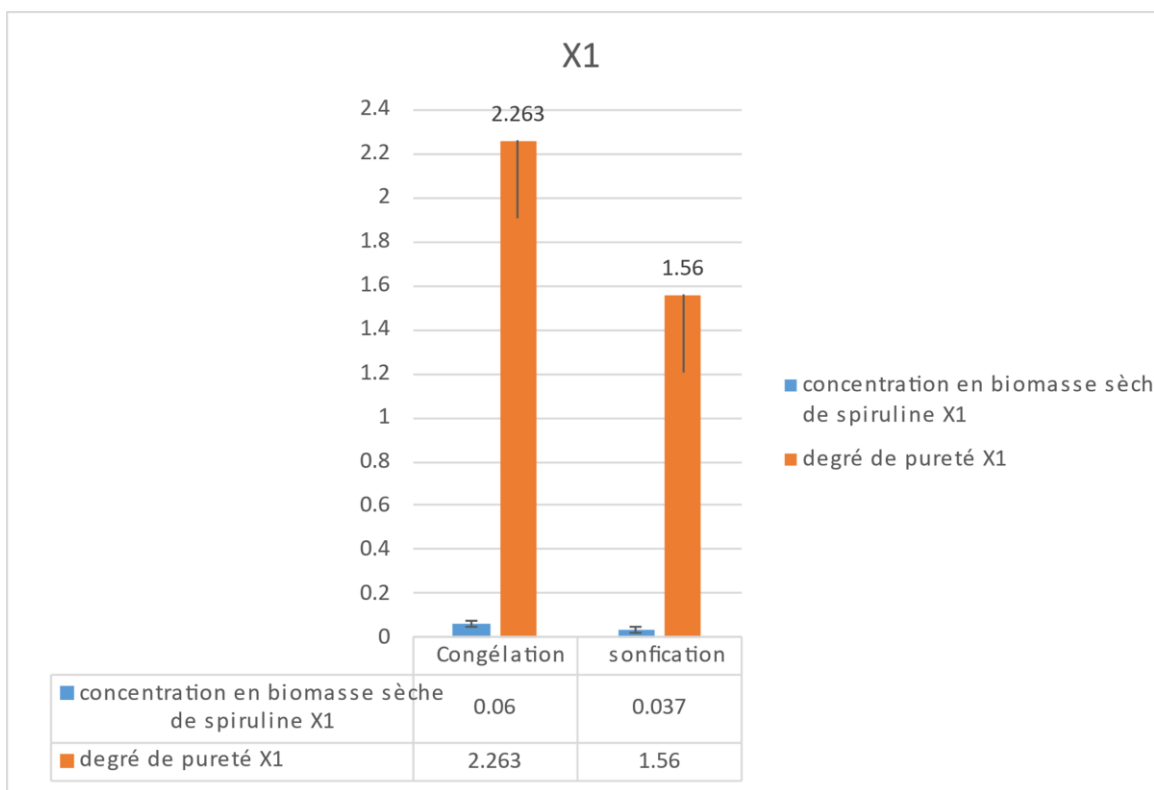


Figure II.21 : Concentrations et pourcentages de pureté de phycocyanine de spiruline X1.

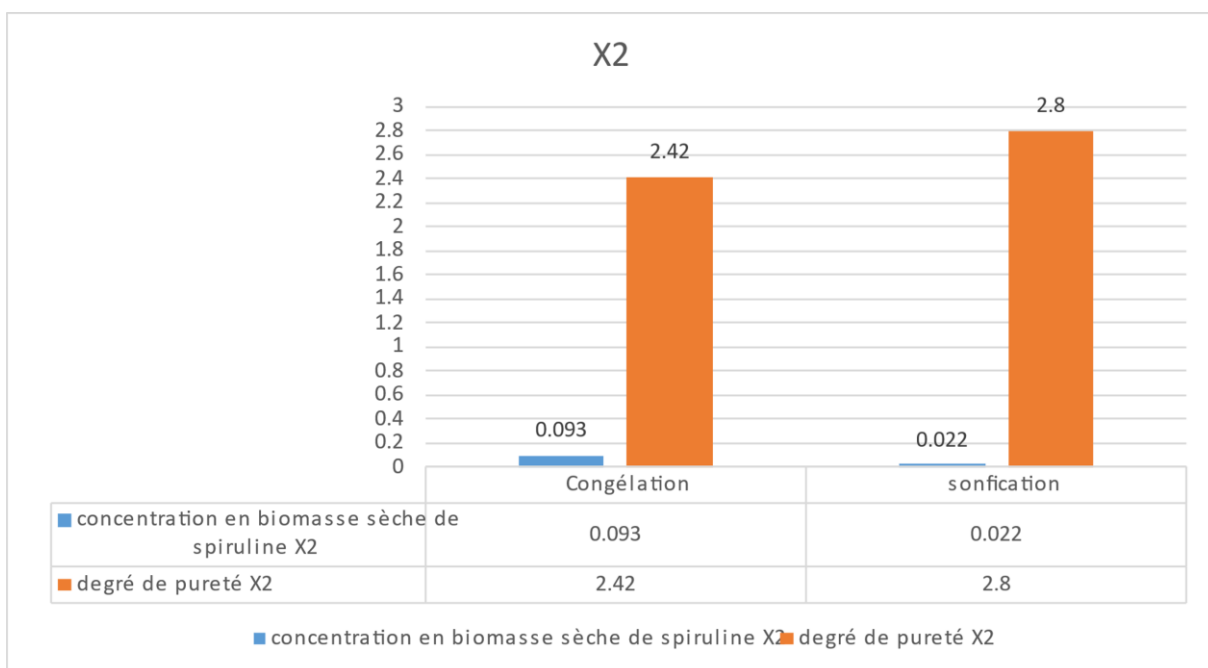


Figure II.22 : Concentrations de phycocyanine de spiruline X2 et pourcentages de pureté

3.4.1. Discription

Dans notre étude, la concentration de phycocyanine variait de la spiruline sèche entre (0,006 à

0,037 mg / ml) pour la spiruline XI. (0,022 à 0,093 mg/ml) pour la spiruline X2. Nous avons observé que l'extraction par congélation donnait des concentrations plus élevées de C-phyco-cyanine par rapport à (extraction par sonification) pour l'échantillon X1 (0,06 vs 0,037) et dans l'échantillon X2 (0,093vs 0,022).

3.4.2. Discussion

La concentration d'extraction n'est pas affectée par la méthode de cueillement, mais aussi par la méthode de culture et les conditions climatiques d'une région à l'autre, ces résultats sont conformes à ceux rapportés par **Lafri et al. ,2017)** et par **(Leema et al. ,2010)**, mais sa concentration dans les cellules dépend des conditions de croissance et du type de souche **(Lu et Vonshak, 1999)**.

On peut voir que, les valeurs de concentration de la spiruline X2 sont significativement plus élevées que celles de la spiruline X 1.Selon **(PIERLOVISI, 2008)**, le poids sec des algues est de 30% de protéines végétales, ce sont des pigments protéiques. Parmi elles, la phycocyanine (le pigment principal de la spiruline, représentant 15 à 20% du poids sec des algues). Dans notre étude, l'extraction par congélation nous a donné les valeurs de pureté les plus élevées par rapport aux autres méthodes pour l'échantillon X1 (2,263), et pour X2 était la méthode de sonification (2,8). la pureté est variable entre la méthode utilisée et la région, par conséquent, le degré de pureté le plus élevé était dans l'échantillon de X2 par rapport aux autres échantillons de X1, et la meilleure méthode qui a donné la valeur la plus élevée est la méthode de sonification. Trouver une méthode d'extraction appropriée et nouvelle est nécessaire pour obtenir une C-phyco-cyanine de haute qualité à utiliser dans différentes formulations alimentaires. L'optimisation des conditions expérimentales peut ainsi permettre de sélectionner un processus rapide et économique dans l'extraction de cet ingrédient fonctionnel **(Vali Aftari et al. ,2015)**.

3.5. Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes

Les quantités de chlorophylles et d'e-caroténoïdes observées dans cette étude sont indiquées dans la figure ci-dessous :

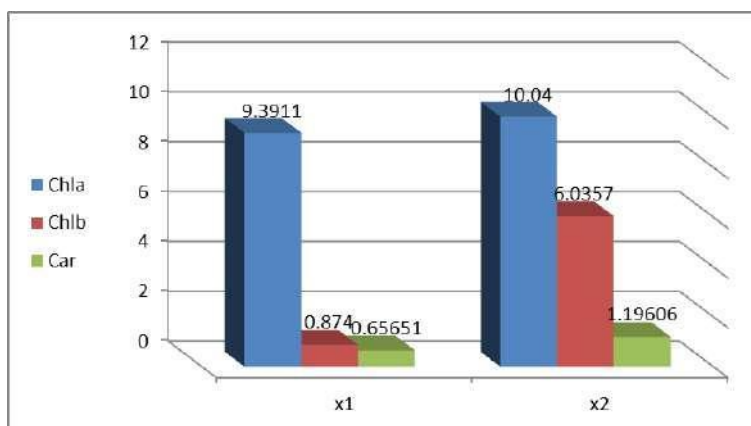


Figure II.23 : Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes en (mg/g) dans différentes régions d'extraits de spiruline

3.5.1. Description

La spiruline est connue pour fournir la forme pure de la chlorophylle aux coûts de production les plus bas, car la majeure partie de la chlorophylle (environ 90%) présente dans la spiruline se présente sous forme de chlorophylle a. En particulier, la chlorophylle a récemment été très demandée en raison de son activité biologique.

, comme celle d'un antioxydant , est considérée comme supérieure à celle d'autres chlorophylles, comme la chlorophylle b. La teneur en chlorophylle présente dans les échantillons de spiruline est illustrée à la figure 1. Les valeurs de chlorophylle et de caroténoïdes étaient plus élevées dans l'échantillon de spiruline X2,

où chlorophylle A (10,04 mg/g), chlorophylle B (6,0357 mg/g) et caroténoïdes (1,19606 mg/g).

Ont été réduits dans l'échantillon de spiruline X1, de chlorophylle a (9,3911 mg / g), de chlorophylle b (0,874 mg / g) et de caroténoïdes (0,65651 mg / g)

3.5.2. Discussion

Les résultats présentés ont montré que la chlorophylle a était répandue dans les deux sémioles par rapport à la chlorophylle b. Le pourcentage le plus élevé de chlorophylle a a été trouvé dans la spiruline X2 par rapport à la spiruline X1 pour atteindre leur valeur X1 = 9,3911 mg / g , X2 = 10,04 mg / g et cela est en accord avec le **travail de (AOUIR, 2017) et s'oppose au travail de (Minchev et al. ,2020).**

Pour la chlorophylle b, la valeur la plus élevée apparaît dans la spiruline X2, contrairement à la spiruline X1, qui est faible, avec deux valeurs $X1 = 0,874 \text{ mg / g}$, $X2 = 6,0357 \text{ mg / g}$ Ceci est cohérent avec les travaux de (Minchev et al. ,2020).

La valeur des caroténoïdes dans la spiruline X2 apparaît dans des proportions variables par rapport à la spiruline X1, avec une valeur de $X1 = 0,65651 \text{ mg / g}$ $X2 = 1 9606 \text{ mg / g}$, et cela concorde avec le travail (AOUIR, 2017).

4. Activités biologiques

4.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante totale a été testée et l'acide ascorbique a été utilisé comme figure de référence II.9, où les résultats présentés à la figureII.10ont été enregistrés.

4.1.1. Test d'inhibition des radicaux libres DPPH

Le DPPH est un radical libre stable avec une bande d'absorption à 517 nm utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins, par sonification et congélation. Dans ce test, l'acide ascorbique est utilisé comme norme. La CI50 pour chaque extrait de spiruline X1 et X2 est déduite de l'équation de régression correspondant à la courbe d'étalonnage et est exprimée en $\mu\text{g/mL}$. Les résultats sont représentés graphiquement sur le graphique (figureII.10).

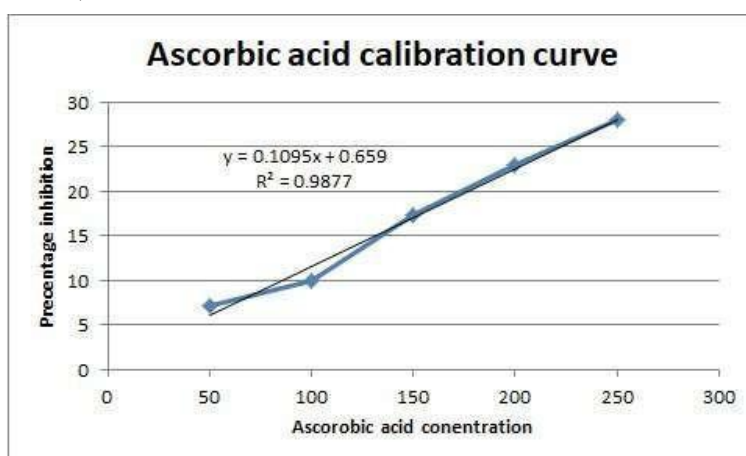


Figure II.24: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

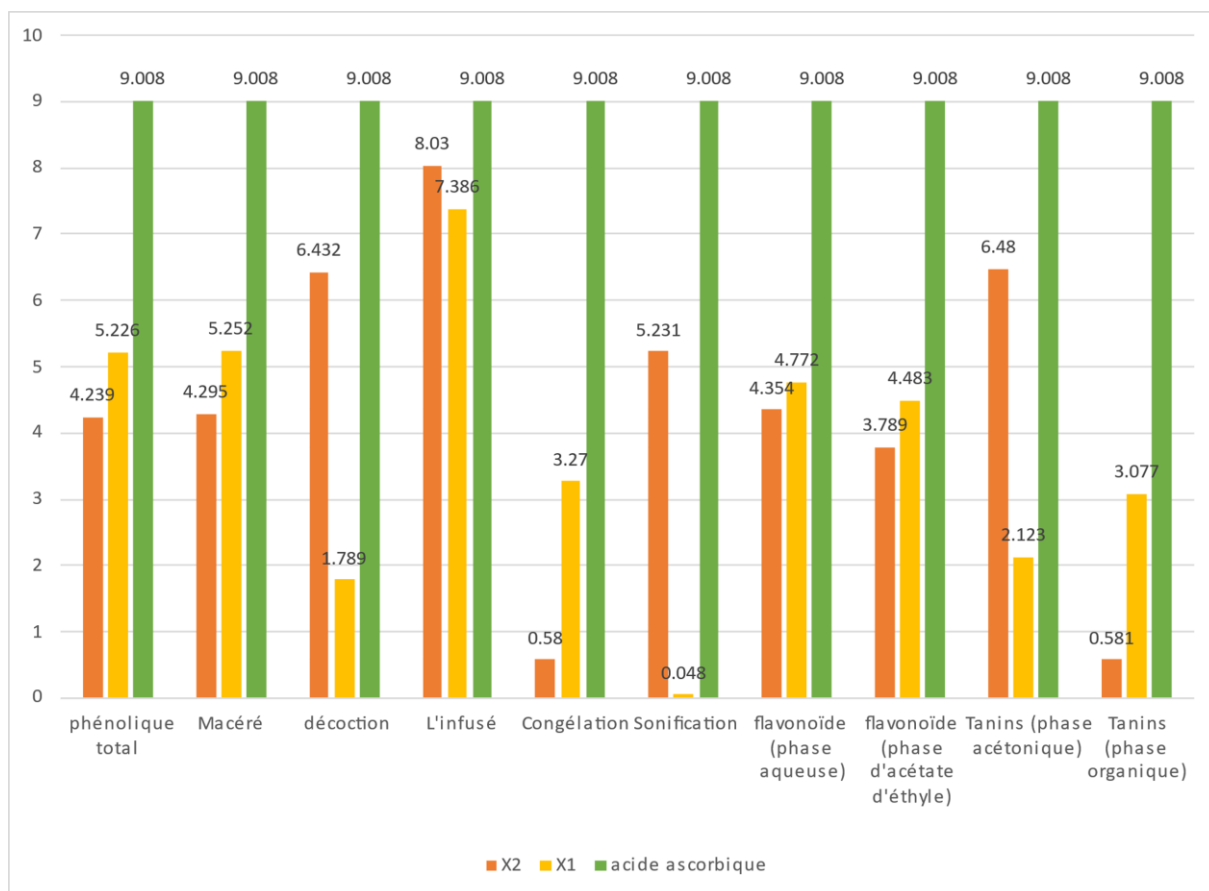


Figure II.25 : valeurs CI50 des différents extraits et de l'acide ascorbique en (µg/ml).

✓ Description

La figure montre les valeurs de CI50 de différents extraits et d'acide ascorbique en (µg/ml) : la phase organique montre la valeur IC50 (X2= 1 µg/ml ; X1=3 µg/ml) ; Les valeurs de la phase phénolique, aqueuse (flavonoïdes) et de la CI50 macérée sont X2 = 4 µg/ml ampère; X1=5 µg/ml ; La phase acétonique (tanins) IC50 est X2 = 6 µg/ml ampère; X1=2 µg/ml ; La CI50 infusée est élevée de X2= 8 µg/ml , X1=7 µg/ml ; L'acétate d'éthyle (flavonoïdes) est X1=X2= 4 µg/ml ; La sonification IC50 est X2= 5, X1 = 0,5 ; La congélation est X2 = 1, X1 = 3 µg/ml et décoctée est X2 = 6, X1 = 2 µg/ml.

Les résultats de cette figure montrent que les valeurs de CI50 de tous les extraits X1 et X2 Quelle que soit la méthode d'extraction utilisée, sont inférieures à celles de l'acide ascorbique, cela signifie qu'il a une activité antioxydante plus élevée que l'acide ascorbique dans le test DPPH. Dans le cas de x1, l'extrait qui avait la valeur CI50 la plus faible est l'extrait de sonification, indiquant qu'il avait l'activité antioxydante la plus élevée, mais dans le cas de x2, l'extrait

qui avait la valeur CI50 la plus basse est pour l'extrait de congélation qui ont des valeurs CI50 similaires de phase organique (tanins). L'extrait infusé avait la valeur CI50 la plus élevée en x1 et x2, indiquant qu'il avait la plus faible activité antioxydante.

✓ Discussion

Le test DPPH est une méthode utilisée pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Dans le test DPPH, une solution de DPPH est ajoutée à l'échantillon testé. (Baliyan et al. ,2022) . La valeur CI50 est une mesure de la concentration d'un échantillon qui est nécessaire pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique de 50%. Dans le contexte de l'activité antioxydante, la valeur IC50 est la concentration d'un échantillon nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres dans un DPPH solution. Une valeur de CI50 inférieure indique qu'un échantillon a une activité antioxydante plus élevée, tandis qu'une valeur de CI50 plus élevée indique qu'un échantillon a une activité antioxydante plus faible (Vimala et al. ,2011) .

En effet, en utilisant DPPH, l'extrait éthanolique a enregistré l'activité la plus élevée avec les valeurs de CI50 les plus faibles (IC50 = 449 g / mL ± 83) suivi de celle de l'extrait lipidique (IC50 = 491 g / mL ± 59), tandis que l'activité la plus faible était pour l'extrait aqueux (IC50 = 4148 g / mL ± 132). Ampli Asghari; al en 2016 a constaté que la spiruline contient les deux groupes d'antioxydants. Il contient une grande quantité de SOD, GPx, CAT ainsi que de vitamines C, E, K et du groupe B. Il contient également du carotène, de la provitamine A, de la chlorophylle et de la phycocyanine. En outre, il fournit 18 acides aminés, y compris tous les acides aminés essentiels (Romay et al. , 2003) . Il contient des minéraux tels que K, Ca,

Mg, Fe, Cu, Se et Zn qui peuvent également = présenter des propriétés antioxydantes. Cependant, dans les études climatiques, le pigment bleu biliprotéine C-Phycocyanine est considéré comme le principal antioxydant de la spiruline. (Finamore et al. ,2017)

CONCLUSION GÉNÉRALE

La spiruline a une grande importance en raison de son activité ethnobotanique, phytochimique et biologique, et c'est une source prometteuse de divers métabolites secondaires, y compris les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les phénols, les saronoses, les stérols et les triterpènes. La spiruline est un aliment aux qualités nutritionnelles élevées, elle semble présenter plusieurs activités biologiques, le criblage phytochimique des extraits révèle à partir des deux échantillons de spiruline X1 et X2 la présence de cinq grands groupes chimiques, à savoir les tanins, les flavonoïdes, les stérols et triterpènes, les alcaloïdes et les phénols dans tous les extraits des deux échantillons de spiruline X1 et X2.

Les résultats des valeurs de rendement montrent que l'extrait phénolique total donne des valeurs de rendement plus élevées que les autres extraits, où l'échantillon Spiruline X1 contient les valeurs de rendement les plus élevées et l'échantillon de Spiruline X2 a les valeurs de rendement les plus faibles et la même chose pour l'extrait de tanins, l'extrait macéré et l'extrait flavonoïde (phase acétate d'éthyle). Et l'extrait flavonoïde, on trouve la valeur de rendement la plus élevée dans l'échantillon de spiruline X2 et la plus faible dans l'échantillon de spiruline X1 et la même chose à propos de l'extrait de sonification, de l'extrait infusé, de l'extrait décocté, de l'extrait de congélation, de l'extrait flavonoïde (phase aqueuse) et de l'extrait de tanins (phase aqueuse).

Les résultats de la quantification des composés phénoliques, flavonoïdes et tanins totaux dans l'équivalent mg d'acide gallique, de quercétine et de catéchine, respectivement, par gramme de poids d'extrait, il a été noté que la quantité de phénolique total, de flavonoïdes (phase acétate d'éthyle) et de tanins (phase organique) dans la spiruline X2 est supérieure à X1. Quant à la quantité de flavonoïdes (phase aqueuse) et de tanins (phase acétonique) dans la spiruline X1 est supérieure à X2.

Les valeurs de chlorophylle et de caroténoïdes étaient plus élevées dans l'échantillon de spiruline X2, ont été réduites dans l'échantillon de spiruline X1.

L'activité antioxydante totale a été testée et l'acide ascorbique comme référence. Les résultats montrent que les valeurs CI50 de tous les extraits X1 et X2 Quelle que soit la méthode d'extraction utilisée, sont inférieures à celles de l'acide ascorbique, cela signifie qu'il a une activité antioxydante plus élevée que l'acide ascorbique dans le test DPPH. Dans le cas de x1, l'extrait qui avait la valeur CI50 la plus faible est l'extrait de sonification, indiquant qu'il avait l'activité antioxydante la plus élevée, mais dans le cas de x2, l'extrait qui avait la valeur CI50 la

plus basse est pour l'extrait de congélation qui ont des valeurs CI50 similaires de phase organique (tanins). L'extrait infusé avait la valeur CI50 la plus élevée en x1 et x2, indiquant qu'il avait la plus faible activité antioxydante.

Les études (**Bellahcen et al. ,2020**) ,(Barzegar et al. ,2016) ,(Romay et al. , 2003) et **Jung, 2019** ont étudié l'activité antioxydante de la spiruline à l'aide du test DPPH. Les dernières études (**Bellahcen et al. ,2020**), mentionnent que tous les extraits de *S. platensis* ont montré un effet antioxydant, avec des proportions différentes, qui ont confirmé nos résultats et nous pouvons dire que la spiruline (X1 et x2) a une activité phytochimique et biologique très élevée.

Grâce à cette étude, nous pouvons conclure et dire que la spiruline X1 et X2 possèdent un contenu similaire de métabolisme secondaire avec une supériorité X2 lors de l'extraction en phase aqueuse et une supériorité X1 dans le cas de l'extraction hydrophobe.

Cette convergence de contenu peut expliquer la convergence concernant l'efficacité antioxydante de la spiruline X1 et X2 qui était élevée dans tous les extraits (observée dans l'expérience DPPH).

Pour compléter l'étude, nous souhaitons soutenir une analyse chimique plus précise utilisant la chromatographie HPLC pour identifier les composés efficaces dans la spiruline X1 et X2, ajouter une étude et une comparaison entre la spiruline X1 et X2 pour l'efficacité antibactérienne, antivirale, anti-inflammatoire et anticancéreuse, et étudier la possibilité de fabriquer des médicaments contenant les composés chimiques de la spiruline X1. X2.

BIBLIOGRAPHIE

✓

-
- ✓ A Benahmed-Bouhafoun, H Djebbar et M Kaid-Harche. Dosage des composés polyphénoliques des extraits de *washingtonia robusta* h. wendl. *Acta Physica Polonica A*, 128(2B), 2015.
 - ✓ A Bouba A, YN Njintang, J Scher, CMF Mbofung, et al. Phenolic compounds and radical scavenging potential of twenty camerounian spices. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(3):213-224, 2010.
 - ✓ A Casal. l'aliment idéal et le plus complet de demain, site web, 2019.
 - ✓ à partir d'orchidées épiphytes et de leurs antioxydants analyse de l'activité de piégeage.
 - ✓ Adam Matkowski et Magdalena Piotrowska. Activités antioxydantes et de piégeage des radicaux libres de certaines plantes médicinales des lamiacées. *Fitoterapia*, 77(5):346-353, 2006.
 - ✓ Agam Kumar, Duraisamy Ramamoorthy, Daneshver Kumar Verma, Arvind Kumar, Naveen Kumar, Kanak Raj Kanak, Binny Mary Marwein et Kalai Mohan. Activités antioxydantes et phytonutritionnelles de la spiruline *platensis*. *Energy Nexus*, 6:100070, 2022.
 - ✓ AHOUNOU M. N., 2018 : La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse pour l'obtention d'un Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université de Rouen, UFR de Médecine et de Pharmacie, p 17-27, 40.
 - ✓ AJ Uddin, S Mahbuba, Sk Rahul, M Ifaz et H Ahmad. Super aliment spiruline (*spirulina platen-sis*): Prospect et scopes au bangladesh. *Int. J. Bus. Soc. Sci. Res*, 6:51–55, 2018.
 - ✓ Akbarizare, M., Ofoghi, H., Hadizadeh, M., & Moazami, N. (2020). In vitro assessment of the cytotoxic effects of secondary metabolites from *Spirulina platensis* on hepatocellular carcinoma. *Egyptian Liver Journal*, 10, 1-8.
 - ✓ AL GHANAYEM A. 2017 : Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Extracts Against Certain Pathogenic Bacteria and Fungi ; Original Article, Advances in Bioresearch, Journal's URL : [http : // www.soeagra.com / abr.html](http://www.soeagra.com/abr.html), Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, Shaqra University, Shaqra, Kingdom of Saudi Arabia.
 - ✓ Alberto Finamore, Maura Palmery, Sarra Bensehaila et Ilaria Peluso. Activités antioxydantes, im-munomodulatrices et microbiennes de la spiruline durable et respectueuse de

l'environnement. *Médecine oxydative et longévité cellulaire*, 2017, 2017.

- ✓ Allen Bennett et Lawrence Bogorad. Adaptation chromatique complémentaire dans une algue bleu-vert filamenteuse. *The Journal of cell biology*, 58(2):419-435, 1973.
- ✓ Amel AOUIR. *Extraction des composé's bioactifs de la spiruline par le champ e'lectrique pulse'*. Thèse de doctorat, ENSA, 2017.
- ✓ Amel MEHREZ. Contribution de l'e'tude de l'activite' d'arthrospira platensis (spirulina foxybehatam). 2021.
- ✓ Amin Ardestani et Razieh Yazdanparast. Effets inhibiteurs de l'extrait d'acétate d'éthyle de teucrium
- ✓ ANDREANI C. G., 2012 : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9
- ✓ *Animal feed science and technology*, 91(1-2):21–40, 2001.
- ✓ AS Babadzhanov, N Abdusamatova, FM Yusupova, N Faizullaeva, LG Mezhlumyan, et M Kh Malikova. Composition chimique de spirulina platensis cultivée en Ouzbékistan. *Chimie des composés naturels*, 40(3), 2004.
- ✓ Asieh Asghari, Mohammad Fazilati, Ali Mohammad Latifi, Hossain Salavati et Ali Choopani. Une revue sur les propriétés antioxydantes de la spiruline. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 3 (1):345-351, 2016.
- ✓ Audrey Manet. La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine.
- ✓ Avigad Vonshak. Spiruline : croissance, physiologie et biochimie. Dans *Spiruline platensis arthrospira*, pages 61-84. CRC Press, 1997.
- ✓ B Vijayakumari, V Sasikala et SR Radha. Criblage phytochimique préliminaire des différents extraits de rotula aquatica lour. *World J Pharm Pharm Sci*, 2(6):6371–80, 2013.
- ✓ Badji Raul N Carvalho Jr, Lucinewton S Moura, Paulo TV Rosa et M Angela A Meireles. Extraction fluide supercritique du romarin (rosmarinus officinalis): données cinétiques, rendement global, composition et activité antioxydante de l'extrait. *The Journal of Supercritical Fluids*, 35(3):197-204, 2005.
- ✓ Balazs Lendvai, Tibor Zelles, Balazs Rozsa et E Sylvester Vizi. Un vinca alcaloïde

- améliore la dynamique morphologique des épines dendritiques des cellules pyramidales de la couche néocorticale 2/3. *Brain research bulletin*, 59(4):257-260, 2003.
- ✓ BANKS J., 2007 : Etude de la Spiruline au Palacret, Etudier la Faisabilité de la Mise en Place d'une Filière Spiruline sur le site du Palacret, dans les Côtes d'Armor, Manuel, p 10, 11.
 - ✓ BARTH AND LEO, 2019 : Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, <https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits/>
 - ✓ Bassene Emmanuel. Initiation à la recherche sur les substances naturelles: extraction-analyse-essais biologiques. In *Initiation à la recherche sur les substances naturelles: extraction-analyse-essais biologiques*, pages 150–150. 2012.
 - ✓ Benahmed Djilali Adiba, Benamara Salem, Saidi Nabil et Meksoud Abdelhakim. Caractérisation préliminaire des comprimés alimentaires à partir de poudres de dattes (phoenix dactylifera L.) et de spiruline (spirulina sp.). *Powder Technology*, 208(3):725-730, 2011.
 - ✓ BO Mbaebie, HO Edeoga et AJ Afolayan. Analyse phytochimique et activités antioxydantes de l'extrait aqueux d'écorce de tige de schotia latifolia jacq. *Asian Pacific Journal*
 - ✓ BOUDAOU S., 2016 : l'Incorporation de la Spiruline sur les Qualités Nutritionnelles, Organoleptiques et Technologiques du Couscous Artisanal, Mémoire de Master en Agronomie, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, p 35.
 - boville, coˆte-d'ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1), 2009.
 - ✓ C Girardin-Andre´ani. Spiruline: syste`me sanguin, syste`me immunitaire et cancer. *Phytotherapie*, 3(4):158–161, 2005.
 - ✓ C Yap, C Ho, S Chan, C Lee, Y Leong et Wan Aida WM. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques totaux à partir de résidus de caramboles (averrhoa carambola L.). *Sains Malaysiana*, 38 ans, 2009.
 - ✓ Carole PIERLOVISI. Composition chimique de la spiruline. In *International Symposium on Spirulina*, page 25, 2008.
 - ✓ CASAL A., 2019 : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr
 - ✓ CH Romay, R Gonzalez, N Ledon, D Ramirez et V Rimbau. C-phycoyanine : une

- biliprotéine aux effets antioxydants, anti-inflammatoires et neuroprotecteurs. *Current protein and peptide science*, 4(3):207–216, 2003.
- ✓ Changhu Xue, Yaqin Hu, Hiroaki Saito, Zhaohui Zhang, Zhaojie Li, Yuepiao Cai, Changrong Ou, Hong Lin et Andrey B Imbs. Composition moléculaire en espèces des glycolipides de spirulina platensis. *Food Chemistry*, 77(1):9-13, 2002.
 - ✓ CHARPY L., LANGLADE M. J., ALLIOD R., 2008 : La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ? Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16.
 - ✓ Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.
 - ✓ Chee Kuan Kwei. *Élucidation et isolement d'un composé bioactif spécifique dans des isolats de cyanobactéries*. Thèse de doctorat, 2012.
 - ✓ -Chi Chang, Ming-Hua Yang, Hwei-Mei Wen et Jiing-Chuan Chern. Estimation de la teneur totale en flavonoïdes dans la propolis par deux méthodes colorimétriques complémentaires. *Journal of food and drug analysis*, 10(3), 2002.
 - ✓ Congming Lu et Avigad Vonshak. Photoinhibition dans les cultures extérieures de spiruline platensis par des transitoires de fluorescence polyphasique de la chlorophylle. *Journal of Applied Phycology*, 11: 355-359, 1999.
 - ✓ cyclodextrine. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2022.
 - ✓ Deepak Kumar Soni, Sushil Kumar Shahi, Pramila Khandel, Deepika Mahobiya, Ravishankar Singh, Ravi Kumar Yadaw et Leeladhar Kanwar. Extraction et estimation des chlorophylles
 - ✓ Delleci, M. B. (2011). *Effet du stress physiologique sur une micro-algue productrice de biogaz* (Doctoral dissertation).
 - ✓ Dianursanti Dianursanti, MB Prakasa et P Nugroho. L'effet de l'ajout de microalgues extrait spiruline platensis contenant flavonoïde dans la formation de crème solaire vers la stabilité de la crème et les valeurs SPF. Dans *AIP Conference Proceedings*, volume 2255. AIP Publishing, 2020.
 - ✓ Djahra Ali Boutlelis. *Etude phytochimique et activite' antimicrobienne, antioxydante,*

- an-tihe'patotoxique du Marrube blanc ouMarrubium vulgare L.* PhD thesis, Université Mokhtar de Annaba, Département de Biologie, 2014.
- ✓ DURAND-CHASTEL, H. (1993). La Spiruline, algue de vie. *Bulletin de l'Institut océanographique (Monaco)*, 7-11.
 - ✓ E Gantt et SF249872 Conti. Ultrastructure des algues bleu-vert. *Journal of Bacteriology*, 97 (3):1486-1493, 1969.
 - ✓ EJ Olgu'in, S Galicia, R Camacho, G Mercado et TJ Pe'rez. Production de spiruline sp. dans l'eau de mer complétée par des effluents anaérobies dans les raceways extérieurs dans des conditions climatiques tempérées. *Applied microbiology and biotechnology*, 48:242-247, 1997.
- Environmental & Clean Technology*, 83 (6):842-848, 2008.
- ✓ Ernest Ross et Warren Dominy. La valeur nutritionnelle des algues bleu-vert déshydratées (*spirulina plantensis*) pour la volaille. *Poultry science*, 69(5):794-800, 1990.
 - ✓ Evoli Conseil (2015). Culture et vente de Spiruline : Etude de faisabilité économique. Disponible sur (dernier consultation septembre 2020)
 - ✓ Fewzia Bekkara, Maurice Jay, Marie Rose Viricel et Sophie Rome. Distribution des composés phénoliques dans les semences et les plantules de deux *Vicia Faba* CVS différenciant par leur teneur en tanin de graines, et étude de leurs exsudations phénoliques de graines et de racines. *Plant and Soil*, 203:27-36, 1998.
 - ✓ Fox, R. D. (1999). La spiruline : technique, pratique et promesse. Edisud: 246. ISBN 2-7449-0100-8. p. 18-129.
 - ✓ François Doumenge, Hubert Durand-Chastel, Anne Toulemont, et al. Spiruline, algue de vie.1993.
 - ✓ Gamal A Gabr, Salwa M El-Sayed et Mohamed S Hikal. Activités antioxydantes de la phyco-cyanine: Un composé bioactif de la spiruline platensis. *J. Pharm. Res. Int*, 32:73-85, 2020.
 - ✓ 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.

-
- ✓ I Lafri, M Jemni, S Bensehaila, L Boutekrabt, et coll. Evaluation of methods of extracting phyco- cyanine and yield from spirulina platensis. *AgroBiologia*, 7(2):623-632, 2017.
 - ✓ Imane Hamouda Ali, Amel Doumandji, et al. Analyse phytochimique comparative et activités antimicrobiennes in vitro de la cyanobactérie spirulina platensis et de l'algue verte chlorella pyrenoidosa: application potentielle de composants bioactifs comme alternative aux maladies infectieuses. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, 39:41–49, 2017.
 - ✓ Ime`ne LAFRI. *Optimisation des me`thodes d extraction de la phycocyanine a` partir de la spiru- line HTAM*. PhD thesis, UNIVERSITE DE BLIDA 1, 2018.
 - ✓ Ivailo Minchev, Nadezhda Petkova et Iliana Milkova-Tomova. Extraction assistée par ultrasons de chlorophylles et de phycocyanine de spiruline platensis. *Biointerface Res Appl Chem*, 11(2): 9296-9304, 2020.
 - ✓ J BANKS. Etude de la spiruline au palacret. *Etudier la Faisabilite´ de la Mise en Place d'une Filie`re Spiruline sur le site du Palacret, dans les Co`tes d'Armor, Manuel*, 10(11), 2007.
 - ✓ Jacques Falquet and JP Hurni. *Spiruline: aspects nutritionnels*. Flamant vert France, 1986.
 - ✓ Jacques Simpore, Fatoumata Kabore, Frédéric Zongo, Deleli Dansou, Augustin Bere, Salvatore Pignatelli, Daniela M Biondi, Giuseppe Ruberto et Salvatore Musumeci. Réhabilitation nutritionnelle des enfants sous-alimentés utilisant la spiruline et le misola. *Nutrition journal*, 5(1):1–7, 2006.
 - ✓ Jakpa Wizi, Lixiao Ni, Williams Kweku Darkwah et Li Xianglan. Analyse de composés bioactifs à partir de différents échantillons d'algues extraits par ultrasons: caractérisations, contenus phytochimiques et potentiels antioxydants. *Pharmacognosy Research*, 14(1), 2022.
 - ✓ Janice Alano Ragaza, Md Sakhawat Hossain, Kristen A Meiler, Stephanie F Velasquez et Vikas Kumar. Une revue sur la spiruline: milieux alternatifs pour la culture et valeur nutritive en tant qu'aliment aquacole. *Reviews in Aquaculture*, 12(4):2371–2395, 2020.
 - ✓ JL Vidalo. Spiruline, l'algue bleue de sante´ et de pre´vention, livre, chapitre 3/cancer et

- spiruline, p 101, chapitre 16/universelle spiruline. *A chacun son profil*, page 240, 2015.
- ✓ Jordan J P, 1999. Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal .Publication Antenna Technologies.
 - ✓ Jourdan, J. P. (2006). Cultivez votre spiruline. *Edt. Antenna Technologie: 146p* [http://www. antenna. ch/documents/manuelJourdan2061. pdf](http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2061.pdf).
 - ✓ JP Jourdan. Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline. *Cultivez votre Spiruline*, pages 1–146, 2006.
 - ✓ JT Mary Leema, R Kirubakaran, NV Vinithkumar, PS Dheenan et S Karthikayulu. Production de pigments de grande valeur à partir d'arthrospira (spiruline) platensis cultivé dans l'eau de mer. *Bioresource technology*, 101(23):9221–9227, 2010.
 - ✓ Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J. H. (2019). Spirulina platensis, a super food ? *Journal of Cellular Biotechnology*, 5(1), 43-54.
 - ✓ Karkos, P. D., Leong, S. C., Karkos, C. D., Sivaji, N., & Assimakopoulos, D. A. (2011). Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2011, 531053. <https://doi.org/10.1093/ecam/nen058>
 - ✓ Kashani, A. (2015). *Genetic and dietary enhancement of n-3 fatty acids in sheep meat* (Doctoral dissertation, University of Tasmania).
 - ✓ KAUSHIK P., CHAUHAN A., 2008 : In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of Spirulina platensis. *Indian J. Microbiol.* 48 :348–352.
 - ✓ Koffi N'Guessan, Beugre' Kadja, G Zirihi, Dossahoua Traore', and Laurent Ake'-Assi. Screening phytochimique de quelques plantes me'dicinales ivoiriennes utilise'es en pays krobou (ag-
 - ✓ Koru, E. (2012). Earth food Spirulina (Arthrospira): production and quality standards. *Food additive*, 465.
 - ✓ L Bellebcir. Etude des compose's phe'noiques en tant que marqueurs de biodiversite' chez les ce're'ales. *Me'moire de Magiste, Universite' Mentouri de Constantine*, 119, 2008.
 - ✓ L Charpy, MJ Langlade, and N Vicente. Ccssd:" les cyanobacte'ries pour la sante', la science et le de'veloppement. Colloque international, 2004.
 - ✓ Larbi Zakaria Nabti et Rachid Belhattab. Activite' antioxydante in vitro de oudneya africana r. br. parties a'eriennes. *IBSPR*, 4:58-64, 2016.

- laziz El Amrani, Abdelmjid Cherif et Mounia Cherki. Evaluation des microalgues marocaines : *Spirulina platensis* comme source potentielle d'antioxydants naturels. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17 (3): 20190036, 2020.
- ✓ LECOINTRE R., 2017 : Optimisation de la production de spiruline dans une ferme à Madagascar afin de lutter contre la malnutrition infantile, Mémoire d'Ingénieur, Agroalimentaire, Oniris, Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation, Nantes Atlantiques, p 5.
 - ✓ LECOINTRE Robin. *Optimisation de la production de spiruline dans une ferme à Madagascar afin de lutter contre la malnutrition infantile*. PhD thesis, 2017.
 - ✓ Loïc Charpy, Marie José Langlade, and Romain Alliod. La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. *Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche*, 2008.
 - ✓ Louvel, S. (2019). La spiruline: intérêts humanitaires et thérapeutiques.
 - ✓ M Ahsan, B Habib, Mashuda Parvin, Tim C Huntington et Mohammad R Hasan. Une revue sur la culture, la production et l'utilisation de la spiruline comme aliment pour les humains et pour les animaux domestiques. 2008.
 - ✓ M Salomez. Opportunités de développement de la filière microalgues à l'île de la Réunion. *P32*, 2009.
 - ✓ Mahdi Belguidoum, Hocine Dendougui, Zaouia Kendour, et al. Propriétés antioxydantes in vitro et teneur phénolique de *Zygodium album* L. d'Algérie. *J Chem Pharm Res*, 7(1):510-14, 2015.
 - ✓ Matin Khosravi, Seyed Ali Mortazavi, Mehdi Karimi, Parvin Sharayie et Mohamade Armin. Comparaison des méthodes d'extraction assistée par ultrasons et d'extraction par kélavenger sur l'efficacité et les propriétés antioxydantes de l'essence d'huile de fenouil et son optimisation par la méthodologie de surface de réponse. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(21):2521, 2013.
 - ✓ Mebarka TOUDERT and Ounissa BOUZIDI. Intérêt de l'utilisation de la spiruline dans les aliments fonctionnels. 2020.
 - ✓ MICHKA, 2005 : La spiruline pour l'homme et la planète, Terra Magna Georg.
 - ✓ MIRANDA M. S., CINTRA R. G., BARROS S. B., 1998 : Antioxydant Activity of the

- Micoalga *Spirulina maxima*, Braz J Med Biol Res, 1998 ; 31: 1075-9
- ✓ Mona Hetta, Rehab Mahmoud, Waled El-Senousy, Mohamed Ibrahim, Gamila El-Taweel et Gamila Ali. Activités antivirales et antimicrobiennes de la spiruline platensis. *World J Pharm Pharm Sci*, 3:31-39, 2014.
 - ✓ Mostafa M El-Sheekh, Alaa A Fathy, et al. Variation de certains constituants nutritionnels et profils d'acides gras de *Chlorella vulgaris* Beijerinck cultivés dans des conditions auto et hétérotrophes. *International Journal of Botany*, 5(2):153-159, 2009.
 - ✓ Nawal KZ AlFadhly, Nawfal Alhelfi, Ammar B Altemimi, Deepak Kumar Verma et Francesco Cacciola. Tendances affectant la croissance et la culture du genre spiruline: Une revue d'enquête sur les tendances actuelles. *Plantes*, 11(22):3063, 2022.
 - ✓ NG Konkon, D Simaga, AL Adjoungova, KE N'Guessan, GN Zirihi et BD Kone. Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm. Me'd. Trad. Afr*, 14:73-80, 2006.
 - ✓ NIANGORAN N'GORAN U. F., 2017 : Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Université Toulouse 3, Paul Sabatier, p 39.
 - ✓ NUF Niangoran. *Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé: estimation de la biomasse*. PhD thesis, thèse, Université de Toulouse, 2017. éclairage et of *Tropical Biomedicine*, 2(2):118-124, 2012.
 - ✓ Omar Khatabi, Hafida Hanine, Driss Elothmani et Aziz Hasib. Extraction et dosage des polyphénols et des pigments de bétalaine dans les figuiers de barbarie marocains (*Opuntia ficus indica*). *Arabian Journal of Chemistry*, 9: S278-S281, 2016.
 - ✓ Orio Ciferri. La spiruline, le micro-organisme comestible. *Microbiological reviews*, 47(4):551-578, 1983.
 - ✓ P Kaushik et Abhishek Chauhan. Activité antibactérienne in vitro de culture de spiruline platensis cultivée en laboratoire. *Indian Journal of Microbiology*, 48:348-352, 2008.
 - ✓ P Ribereau-Gayon. Notion générale sur les composés phénoliques. *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed. Dunod. pp, pages 1–40, 1968.
 - ✓ PERRAULT A., 2017 : A la Recherche de Nouveaux Caroténoïdes Super Antioxydants, Portail Actus, INRA, Université d'Avignon, France.

-
- ✓ Philip Schofield, DM Mbugua, et AN Pell. Analyse des tanins condensés: une revue.
 - ✓ Pierre H Ravelonandro, Dominique H Ratianarivo, Claire Joannis-Cassan, Arse'ne Isambert et Marson Raherimandimby. Influence de la qualité et de l'intensité de la lumière dans la culture de la spiruline platensis de toliara (madagascar) dans un système fermé. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Plant Archives*, 18 (2):2448–2452, 2018.
 - ✓ polium sur la glycoxydation des protéines in vitro. *Food and chemical toxicology*, 45(12):2402–2411, 2007.
 - ✓ QURESHI M. A., HUNTER R., 1995 : Proc 44th. Western Poultry Disease Conference, Sacramento, California, p 117- 121.
 - ✓ Rachid Azzi. *Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien: enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar*. PhD thesis, 2013.
 - ✓ Rahim Barzegar, Asghar Asghari Moghaddam et Evangelos Tziritis. Évaluation de l'hydrogéochimie et de la qualité de l'eau de la rivière Aji-chay, au nord-ouest de l'Iran. *Sciences de la terre environnementales*, 75:1-15, 2016.
 - ✓ Ripley D Fox. *La spiruline: Technique, pratique et promesse*. Edisud, 1999.
 - ✓ Robabeh Vali Aftari, Karamatollah Rezaei, Ali Mortazavi et Ali Reza Bandani. La concentration et la pureté optimisées de la spiruline platensis c-phycocyanine: une étude comparative sur les méthodes d'extraction assistées par micro-ondes et par ultrasons. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (6): 3080-3091, 2015.
 - ✓ Robert Henrikson. Spiruline alimentaire de terre. *Laguna Beach, Californie: Ronore Enterprises, Inc*, 187, 1989.
 - ✓ Rohit Shankar Mane et Bidhayak Chakraborty. Criblage phytochimique des extraits de spiruline platensis du lac Rankala Kolhapur, Inde. *J. Algal Biomass Utiln*, 9:38-41, 2018.
 - ✓ S BOUDAUD. L'incorporation de la spiruline sur les qualités nutritionnelles, organoleptiques et technologiques du couscous artisanal. *Mémoire master en agronomie. Université abou bekr belkaid-Tlemcen*, 2016.

-
- ✓ S Vimala, S Rohana, AA Rashih et M Juliza. Évaluation antioxydante dans la plante médicinale malaisienne: feuille de *Persicaria minor* (huds.). *Sci J Med Clin Trials*, 1:9-16, 2011.
 - ✓ Salima Zidane, Hocine Bouleghlem et Abdallah Mohamed Seghir. Compatibilité hydrique de la région de m'sila (sud-est de l'Algérie) pour la culture de la spiruline & évaluation des méthodes d'extraction de la phycocyanine et étude de la stabilité par la β -
 - ✓ SALL M.G., DANKOKO B., BADIANE M., EHUA E., KUWAKUWI N., 1999 : La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Dakar, Sénégal, Article 46 (3).
 - ✓ Sarra Bensehaila. *E'tude de l'effet antimicrobien et antidiabétique des probiotiques en association avec de la spiruline*. PhD thesis, lynda Boutekrabt, 2016.
 - ✓ Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Mühling, M., Whitton, B. A., ... & Wilmotte, A. (1999). *Arthrospira* ('Spirulina') strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *FEMS microbiology letters*, 172(2), 213-222.
 - ✓ *Sciences pharmaceutiques. ffdumas-01346709f*, 2016.
 - ✓ Sebastien Sguera. *Spirulina platensis et ses constituants: intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques*. PhD thesis, UHP-Université Henri Poincaré, 2008.
 - ✓ SGUERA S., 2008 : *Spirulina Platensis et ses Constituants, Intérêts Nutritionnels et Activités Thérapeutiques*, Thèse pour obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.
 - ✓ Shabana Kouser Ali et Arabi Mohammed Saleh. Spiruline - un aperçu. *International journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences*, 4(3):9-15, 2012.
 - ✓ SHMITZ T., 2014 : Les Incroyables Propriétés de la Phycocyanine, Principe de santé, Revue N° 72.
 - ✓ Shu-Yan Zhang, Chao-Gu Zheng, Xi-Yun Yan et Wei-Xi Tian. Une faible concentration de tanins denses provenant du catéchu inhibe de manière significative la synthèse des acides gras et la croissance des cellules mcf-7. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 371(4):654-658, 2008.
 - ✓ Siddartha Baliyan, Riya Mukherjee, Anjali Priyadarshini, Arpana Vibhuti, Archana Gupta, Ra- mendra Pati Pandey et Chung-Ming Chang. Détermination des antioxydants

- par activité de piégeage des radicaux DPPH et analyse phytochimique quantitative du *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27 (4):1326, 2022.
- ✓ Sneha Sehwaq et Madhusweta Das. Activité antioxydante: un aperçu. *Int. J. Food Sci. Technol*, 2:1-10, 2013.
 - ✓ Souhila Mahmoudi, Mustapha Khali, and Nace'ra Mahmoudi. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*, (9):35, 2013.
 - ✓ Stanier, R. Y. (1974). The relationships between nitrogen fixation and photosynthesis. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 52(1), 3-20.
 - ✓ Stanier, R. Y., & Van Niel, C. B. (1962). The concept of a bacterium. *Archiv für Mikrobiologie*, 42, 17-35.
 - ✓ Stéphane Moutard. *Relation entre la structure et les propriétés d'organisation de nouvelles cyclodextrines amphiphiles*. PhD thesis, Amiens, 2003.
 - ✓ Toshimitsu Hayashi, Kyoko Hayashi, Masaakira Maeda et Ichiro Kojima. Spiruline de calcium, un inhibiteur de la réplication du virus enveloppé, à partir d'une algue bleu-vert spiruline platensis. *Journal of natural products*, 59(1):83-87, 1996.
 - ✓ Touria Ould Bellahcen, Abderrahmane AAmiri, Ikram Touam, Fouzia Hmimid, Abd-TR Goulamabasse. Spiruline: Effets thérapeutiques et lutte contre la malnutrition à Madagascar thèse d'exercice. Faculté de Pharmacie de Lille, pages 9–24, 2018.
 - ✓ TREMBLIN G., MOREAU B., 2017 : La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle ? Article, Le Mans Université
 - ✓ U Elaya Perumal et R Sundararaj. Algues: Une source potentielle pour prévenir et guérir le nouveau coronavirus - une revue. *Int. J. Emerg. Technol*, 11(2):479-483, 2020.
 - ✓ VIDALO J. L., 2015 : Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 / Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.
 - ✓ VIDALO J. L., 2015 : Spiruline, l'algue bleue de santé et de prévention, Livre, Chapitre 3 / Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p. 240.
 - ✓ William Charles Evans. *Pharmacognosie de Trease et Evans*. Edimbourg; New York:

- Saunders, 2009. J Falquet et JP Hurni. Spiruline, aspects nutritionnels. Technologies d'antenne: 41 p, 2006.
- ✓ YOUGBARE I., 2007 : Impact de la Prise Quotidienne de Spirulina platensis sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience à Burkina Faso, Mémoire pour l'Obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, p11.
 - ✓ Yuya Tsurutani, Kosuke Inoue, Chiho Sugisawa, Jun Saito, Masao Omura et Tetsuo Nishikawa. L'augmentation des taux sériques d'*acide dihomo- γ -linoléinique* est associée à l'*obésité*, à l'*accumulation de graisse corporelle* et à la *résistance à l'insuline* chez les patients japonais atteints de diabète de type 2. *Internal Medicine*, 57(20):2929-2935, 2018.

Annexes



Etuve



balance électronique



Rotavapor



Ultrasons



pH mètre



Centrifugeuse



Agitateur



Vortex



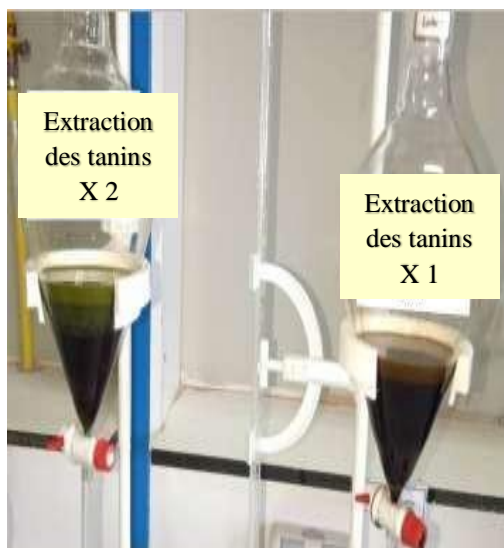
Spectrophotomètre



Balance analytique



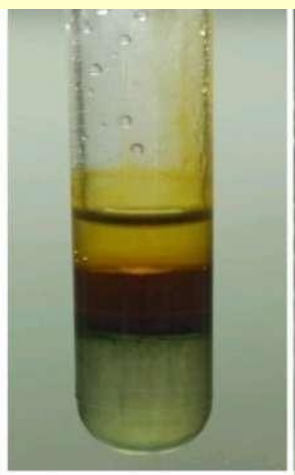
Bain-marie



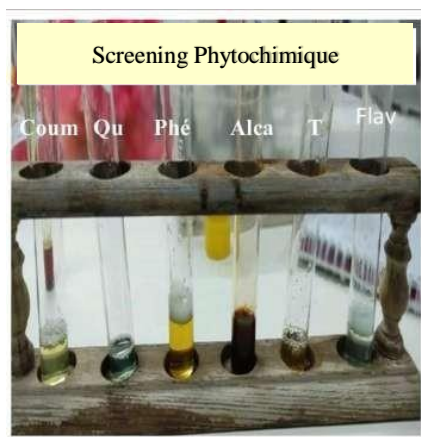
Extraction des tanins



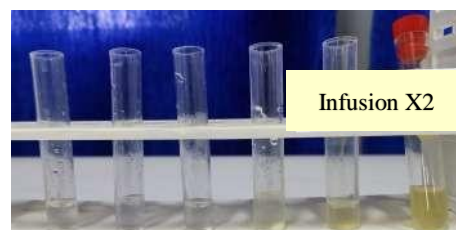
Stérols et triterpènes



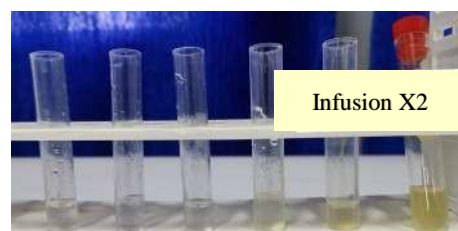
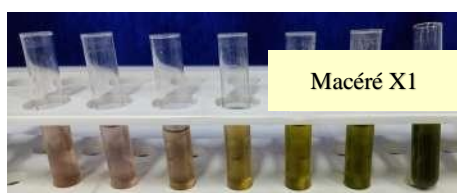
Test des saponosides



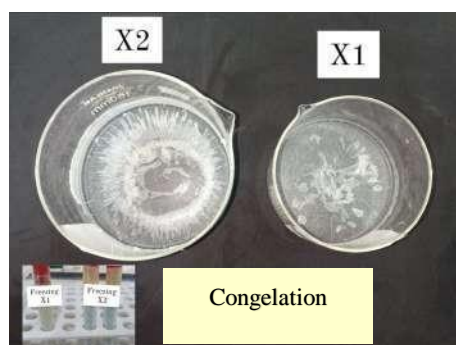
Criblage phytochimique des stérols et des triterpènes



Avant d'ajouter la solution DPPH



Après avoir ajouté la solution DPPH



Rendement de l'extrait congelé