

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE
MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie appliqué

THEME

*Contribution de l'étude de l'activité biologique de
phycocyanine extrait d'Arthrospira platensis
(spirulina FOXBEHATAM)*

Présenté par :

M^{elle}. MEHREZ Amel

Présidence par : Dr. MEDJOUR Abdelhak (MAA)

Encadrer par : Dr. KIRAM Abderrazak (MAA)

Examiner par : Dr. ALLOUCHE Djanat (MAA)

Co encadrer par : Mr. MEKNASSI Abdelkader (IE)

Année universitaire 2020/2021



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Tout d'abord, nous voudrions témoigner notre reconnaissance à tous ceux qui ont offert leurs collaborations professionnelles tant que membre de jury et d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

A Monsieur le **Dr. MEDJOUR Abdelhak** et Madame **Dr. ALLLOUCHE Djanat** qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence et l'examiner de mon jury de mémoire. Sincères remerciements.

Je remercie aussi mes encadreurs: **Dr. KIRAM Abderrazak** et **Mr. MEKNASSI Abdelkader** (Ingénieur d'état de soutien à la recherche d'unité de recherche en énergie renouvelable dans le milieu saharienne d'ADRAR), sans eux ce travail n'aurait pas pu aboutir. Je vous remercie pour votre gentillesse, votre confiance que vous m'avez accordé et pour votre soutien scientifique et moral, votre patience, votre disponibilité et votre participation active tout au long du présent travail; merci d'avoir cru en moi et à mon travail. Je ne trouve pas les mots pour vous exprimer toute ma gratitude..., merci pour tout.

Je souhaite remercier **Dr. HIRI**, professeur à l'université de Tamanrasset, d'avoir accepté de m'orienter et de m'aider dans ce travail.

Je tiens à remercier tout le personnel du laboratoire pédagogique de la biologie et **M^{elle} ALIA Fatima** pour leur présence et leur soutien.

Je remercie tout le personnel du laboratoire des analyses médicales d'hôpital IBEN SINA d'ADRAR particulier au **Mme MEHREZ Zineb** pour leur soutien.

Les derniers remerciements seront pour ma famille qui a très vite compris que les questions concernant l'avancement de mon mémoire n'étaient pas les bienvenues lors des réunions de famille. Merci à **Papa** et à **Maman** de m'avoir soutenue et supportée durant mes études, d'avoir toujours été là pour moi et de croire en moi quoi que je fasse. Merci à **mon frère et mes sœurs**.

Dédicaces

*Merci à ma famille à laquelle je dois cette réussite professionnelle,
À mes parents pour avoir fait ce que je suis.
Sans votre soutien à tous niveaux, je n'y serais jamais arrivée.*

*À ma Mère pour tous les conseils avisés.....
Et pour avoir fourni la matière première
À mon père pour m'avoir donné cette vocation et l'amour de la science*

Je dédie ce travail...

*À ma très chère sœur Siham, ces enfants et ce dyade Mehdié, mes
frères Molay Ahmed et Noureddine ma belle sœur
Souad, Hourhane et Souhila
À ma grand mère*

*Mes oncles et tantes
Mon amie Hadjer*

*Pour avoir contribué à ma réussite.
Pour m'avoir soutenu et avoir cru en moi
À tous mes ami(e)s de promos 2021*

Amel

Résumé

Nos travaux ont porté principalement sur l'étude des propriétés distinctives de la phycocyanine pour la souche de spiruline prélevée dans la région de Tamanrasset (spiruline FOXBEHATAM) après l'avoir extraite par extraction aqueuse de sorte que la phycocyanine extraite a été estimée à 0,116mg/ml avec un rendement significatif de 43,8%. Ensuite, nous avons estimé quantitativement les polyphénols, et les résultats nous ont montré ce qui suit : $6,360 \pm 0,433$ et $520 \pm 0,899$ mg AGE/g de matière sèche à différentes concentrations. Nous avons également estimé les flavonoïdes, et les résultats ont montré la richesse de l'extrait en cette dernière et étaient les suivants : $1,167 \pm 1,310$ mg EQ/g de matière sèche. En estimant l'activité antioxydante à l'aide du test d'inhibition de la paroi libre DPPH, les résultats ont montré des valeurs significatives et une grande efficacité pour cet extrait, car les résultats étaient les suivants de 9,01 à 60,96 % en termes de différentes concentrations de 2 à 20 mg/ml, quant aux valeurs IC50 étaient les suivantes : 16.284 mg/ml. Les résultats d'activité antibactérienne ont montré que la souche *Staphylococcus aureus* a une sensibilité significative à toutes les concentrations de phycocyanine, tandis que les deux souches *Escherichia coli* et *Pseudomonas aerogenosa* ont montré une résistance à toutes les concentrations testées. On peut donc déduire de cette étude que la phycocyanine extraite de la souche de spiruline algérienne (spiruline FOXBEHATAM) (de la région de Tamanrasset) possède une activité biologique importante qui lui permet de lui conférer une valeur nourriture, médicaments et les extraits de spiruline peuvent être mieux utilisés dans les médicaments que les principes actifs synthétiques, réduisant ainsi les effets secondaires résultant d'une consommation médicamenteuse fréquente et inappropriée.

Mots clés : spiruline FOXBEHATAM, Phycocyanine, activité biologique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

Our work focused primarily on the study of the distinctive properties of phycocyanin for the spirulina strain taken from the Tamanrasset region (spirulina FOXBEHATAM) after extracting it by aqueous extraction so that the phycocyanin extracted was estimated at 0.116mg/ml with a significant yield of 43.8%. Then we quantitatively estimated the polyphenols, and the results showed us the following: 6.360 ± 0.433 et 520 ± 0.899 mg AGE/g de matière sèche at different concentrations. We also estimated the flavonoids, and the results showed the richness of the extract in the latter and were as follows: 1.167 ± 1.310 mg EQ/g de matière sèche. By estimating the antioxidant activity using the DPPH free wall inhibition test, the results showed significant values and great efficacy for this extract, as the results were as follows from 9.01 to 60.96% in terms of different concentrations from 2 to 20 mg/ml, as for the IC50 values were as follows: 16.284 mg/ml. The bacterial activity results showed that the strain *Staphylococcus aureus* has a significant sensitivity with all concentrations of phycocyanin, while the two strains *Escherichia coli* and *Pseudomonas aerogenosa* showed resistance with all tested concentrations. So what can be deduced from this study is that the phycocyanin extracted from the Algerian spirulina strain (spirulina FOXBEHATAM) (from the Tamanrasset region) has a significant biological activity that allows it to be given nutritional and medicinal value and opens up prospects for it to be a successful and widespread medicine, lunch and future treatment.

Keywords: spirulina FOXBEHATAM Phycocyanin, biological activity, antioxidant activity, antibacterial activity.

ركز عملنا في المقام الأول على دراسة الخصائص المميزة للفيكوسيانين لسلالة السبيرولينا المأخوذة من منطقة تمنراست (spirulina FOXBEHATAM) وهذا بعد استخلاصه عن طريق الاستخراج المائي بحيث قدر الفيكوسيانين المستخرج ب 0.116 mg/ml بمردود معتبر قدر ب 43.8% ثم قمنا بالتقدير الكمي لعديدات الفينول حيث أظهرت لنا النتائج ما يلي :

وهذا بتراكيز 6.360 ± 0.433 et $520 \pm 0.899 \text{ mg AGE/g de matière sèche}$

مختلفة كما قمنا أيضا بتقدير الفلافونويدات وأظهرت لنا النتائج غنى المستخلص بهذه الأخيرة وكانت كالتالي:

ومن خلال تقدير النشاطية المضادة

للأكسدة باستعمال اختبار تثبيط الجدار الحر DPPH أظهرت النتائج قيم معتبرة وفعالية كبيرة لهذا المستخلص بحيث كانت النتائج كالتالي من 9.01 إلى 60.96% بدلالة تراكيز مختلفة من 2 إلى 20 mg/ml أما فيما يخص القيم IC_{50} فكانت كالتالي 16.284 mg/ml . إن النتائج النشاطية البكتيرية أبانت أن السلالة *Staphylococcus aureus* لها حساسية معتبرة مع كل التراكيز للفيكوسيانين عكس السلالتين *Pseudomonas aerogenosa* و *Escherichia coli* أبدت مقاومة مع كل التراكيز المختبرة. إذن ما يمكن استخلاصه من هذه الدراسة أن الفيكوسيانين المستخلص من سلالة السبيرولينا الجزائرية (spirulina FOXBEHATAM) (من منطقة تمنراست) له فعالية بيولوجية معتبرة تسمح بإعطائه قيمة غذائية ودوائية ويفتح له آفاق بأن يكون دواء وغذاء وعلاج مستقبلي ناجح وعلى نطاق واسع.

الكلمات المفتاحية : spirulina FOXBEHATAM ، الفيكوسيانين ، فعالية بيولوجية ،

فعالية مضاد للأكسدة، نشاطية مضادة للبكتيريا.



Les listes

Liste d'abréviations

AB : agriculture biologique.

ACMA : Association pour Combattre la Malnutrition par l'Algoculture.

AGL : acide gamma-linolénique.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : butyl hydroxy toluène.

CR : centres réactionnels.

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

EAG : équivalent d'acide gallique.

EQ : équivalent de Quercétine.

G6PD : glucose-6-phosphate-déshydrogénase.

GR : La glutathion réductase.

GSHPX : Glutathions peroxydases et réductases.

HACCP : Hazard analysis critical contrôle point en anglais.

IC50 : concentration inhibitrice de 50 %

ISO :Organisation internationale de normalisation.

LHC : Light Harvesting Complex.

MH : Muller Hinton.

MIT : Massachusetts institute of technology.

MS : matière sèche.

NO : Monoxyde d'azote.

NPU : l'Utilisation Protéique Nette.

Liste d'abréviations

ONG : Organisation non gouvernementale.

PC : plastocyanine.

PG : gallate propylée.

PGE1 : prostaglandine E1.

PQ : plastoquinones.

PVD : pays en voie de développement.

RONs : reactive oxygen specieset, N désigne espèces réactives oxygénées et azotées nitrogen en anglais.

ROS : reactive oxygen specieset.

SOD : super oxyde dismutase.

SOD : super-oxyde dismutase.

TBHQ : tétra butyl hydro quinone.

Liste des figures

Figure 1 : Spiruline FOXBEHATAM.	7
Figure 2 : Schéma de la structure d'une cyanobactérie.	9
Figure 3: Morphologies typiques de la spiruline.	12
Figure 4: Cycle biologique de la spiruline	13
Figure 5 : Diagramme de positionnement de la spiruline par rapport à d'autres aliments en termes de protéines	18
Figure 6 : Représentation schématique d'un phycobilisome classique	28
Figure 7: Formule de la phycocyanine	29
Figure 8 : Interaction des deux photosystèmes de la photosynthèse	30
Figure 9: Représentation schématique de la membrane du thylacoïdes ; lieu de déroulement de la photosynthèse	31
Figure 10 : Mécanisme de photosynthèse	31
Figure 11: Les différentes étapes du cycle de Calvin	32
Figure 12 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres.	39
Figure 13 : Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.	41
Figure 14 : Structure de la vitamine E.	42
Figure 15 : Structure de la vitamine C.	42
Figure 16 : Structure de la β -carotène.	42
Figure 17: Situation géographique de la station de prélèvements des échantillons de la spiruline « <i>Spirulina platensis</i> ».	46
Figure 18: Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydante) avec le radical DPPH	48
Figure 19: Escherichia coli.	50
Figure 20: Pseudomonas aerogenosa.	51
Figure 21: Staphylococcus aureus.	51
Figure 22: Antibiotiques pour la comparaison positive Amoxyclav AMC30: 30 μg /disc. penicilline PN10 :10 units/disc	52
Figure 23: Principe de l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques	53
Figure 24: Extraction De Phycocyanine dulle et concentrat (source : laboratoire de Biochimie).	54

Liste des figures

Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux	55
Figure 26 : Teneurs en phénols totaux pour les concentrations étudiées.	55
Figure 27 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.	56
Figure 28 : Teneurs en flavonoïdes pour les concentrations étudiées.	56
Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'extrait de la spiruline (phycocyanine)	57
Figure 30 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.	58
Figure 31 : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 d'échantillon et de standard en mg/ml	59
Figure 32 : Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche d' <i>Escherichia coli</i> .	60
Figure 33 : Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche de <i>Pseudomonas aerogenosa</i> .	60
Figure 34 : Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche de <i>Staphylococcus aureus</i> .	61
Figure 35 : Histogramme des valeurs diamètres d'inhibition des trois souches bactérienne testée.	62

Liste des tableaux

Tableau 1 : Sites géographique où pousse naturellement la spiruline	11
Tableau 2 : Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques	14
Tableau 3 : Composition en acide aminés de la spiruline	19
Tableau 4 : Composition en pourcentage des principaux acides gras pour trois espèces de spiruline	20
Tableau 5 : Vitamines liposolubles contenues dans la biomasse de <i>Spirulina platensis</i>	21
Tableau 6 : Teneur en vitamines hydrosolubles (μg) par gramme de matière sèche de Spiruline	23
Tableau 7 : Composition en minéraux de la spiruline en $\mu\text{g/g}$ de sa matière sèche	24
Tableau 8 : Teneurs en pigments exprimés en en mg pour 10g de matière sèche de <i>Spirulina platensis</i>	26
Tableau 9 : Composition nutritionnelle de la spiruline et rôle de chaque composant	27
Tableau 10 : Valeurs (en %) d'activité anti oxydante pour la spiruline.	57
Tableau 11 : Valeurs (en %) d'activité anti oxydante pour l'acide ascorbique.	57
Tableau 12 : Valeurs des IC50 trouvées pour l'extrait de spiruline et d'acide ascorbique	58
Tableau 13 : Les différentes concentrations utilisées.	59
Tableau 14 : Zone d'inhibition de dix concentrations d'extrait.	61

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces.....	
Résumé	<i>i</i>
Abstract	<i>II</i>
ملخص.....	<i>III</i>
Liste des abréviations	<i>IV</i>
Liste des figures.....	<i>VI</i>
Liste des tableaux	<i>IX</i>
Table des matieres	<i>X</i>
Introduction	<i>1</i>

synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur la spiruline.

1. Historique	3
2. Définition.....	8
3. Classification	10
4. Distribution géographique dans le monde	11
5. Morphologie et caractères généraux	12
6. Cycle biologique	12
7. Production de spiruline.....	13

Chapitre 02 : Biochimie de la spiruline

1. Compositions biochimiques de la spiruline	18
2. Mécanisme de la photosynthèse.....	30

Chapitre 03 : L'application et l'activité thérapeutique de la spiruline

1. Principales applications.....	33
2. Activités thérapeutiques de la spiruline	34
3. Risques de toxicité liés à la production.....	45

partie pratique

Chapitre 01 : Matériel et méthode

1. Matériel biologique	46
2. Matériel expérimental	46
1. Méthodes d'extraction de la phycocyanine.....	46
2. caractérisations de phycocyanine.....	47
1. Dosage de polyphénols totaux	47
2. Dosage de flavonoïde :.....	48
3. Activité antioxydante	48
4. Activité antimicrobienne	49

Chapitre 02: Résultats et discussions

I. Résultats	54
1. Extraction de phycocyanine	54
2. Caractérisations de la phycocyanine	54
1. Polyphénols totaux	54
2. Les Flavonoïdes.....	56
3. L'activité anti oxydante.....	57
4. Activité antimicrobienne	59
II. Discussion générale	63
Conclusion.....	65
Référence bibliographique	66
Annexes	77



Introduction

Introduction

Imaginez un aliment qui peut régler la glycémie, la tension artérielle et le cholestérol¹ ; un aliment qui peut diminuer la souffrance des inflammations² et fournit une activité antioxydante qui prévient les maladies mortelles tel le cancer, l'alzheimer et les maladies cardiaques³ ; un aliment qui protège les reins⁴, le foie⁵ et qui protège le corps des irradiations⁶. Un aliment qui stimule le système immunitaire⁷, allège les allergies⁸ et qui prouvé son activité antivirale⁹.

Plusieurs recherches scientifiques ont montré que la spiruline est aliment miracle, dénommé **Spiruline**. La spiruline (*Arthrospira sp*) est une cyanobactérie nutritionnelle, de 0.2 à 0.3 mm de long¹⁰.

La culture de spiruline dans le monde se concentre dans la ceinture tropicale (Tchad, Inde, Mexique) où elle peut pousser spontanément à cause de la présence des conditions favorables (pH, salinité, température) pour sa croissance. En Algérie, elle est produite à Tamanrasset par HIRI Abdelkader, professeur à l'université de Tamanrasset, et à Ouargla par SAGGAI Ali, professeur à l'université d'Ouargla, ceci dans des bassins de culture.

En outre, les microalgues peuvent produire divers produits de la photosynthèse au cours de leur croissance.

En effet, elle est composée de 55% à 70% de protéines, 6% à 9% de matière grasse, de 15% à 20% de glucides et est riche en minéraux, vitamines, fibres et pigments. Elle appartient au groupe des cyanobactéries qui constitue une composante omniprésente de picophytoplancton maritime qui contribue de manière significative à la biomasse totale en carbone et la productivité primaire des océans¹¹.

Les phycobiliprotéines, que l'on regroupe généralement sous le terme phycocyanines, phycoérythrine et allophycocyanines constituent des protéines pigmentaires photosynthétiques présentes chez certaines algues (algues rouges et cryptophycées) et chez toutes les cyanobactéries.

Actuellement, ces pigments connaissent un regain d'intérêt. Cette tendance s'explique d'une part, par l'augmentation de la demande du consommateur pour des produits naturels eu égard aux impératifs sanitaires, écologiques et de protection de l'environnement et d'autre part, par l'évolution de la législation qui vise à favoriser les produits naturels par rapport à ceux de synthèse.

Introduction

La phycocyanine est une protéine colorée trouvée exclusivement chez les algues bleues. Elle n'est pas synthétisable par voie chimique. Elle est largement indiquée pour colorer en bleu certains produits alimentaires (glacés ou sucrés du genre boissons glacés, crèmes glacées, pâtes, gâteaux et biscuits). Trois gramme de spiruline à plus d'activité antioxydante et antimicrobienne que cinq portions de légumes variés.

Aussi, elle peut être introduite comme composant dans des crèmes de soin de la peau, des masques de beauté et des produits solaires. Elle remplace avantageusement les pigments de synthèse considérés comme suspects.

Actuellement, les applications connues de la phycocyanine à une échelle industrielle se limitent à quelques produits alimentaires (les massepains; les jus sucrés; les glaces, sorbets et accessoirement des chocolats) ou à quelques formulations cosmétiques (crèmes et gels)¹². Les seules entes de la phycocyanine sur le marché sont monopolisés par quelques compagnies (essentiellement japonaises) et n'arrivent à couvrir que 2% au maximum du marché américain de colorants naturels alimentaires.

Alors, cet extrait a-t-il un effet biologique ? Et quelle est cette efficacité manifestée ?

L'objet de nos travaux a porté sur la contribution de l'étude de l'activité biologique de phycocyanine extrait d'*Arthrospira platensis* (spirulina FOXBEHATAM) spiruline Algérienne (région de Tamanrasset).

Puis, nous avons étudiées les caractéristiques de cet extrait (les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne).

Notre travail sera donc réparti en deux parties :

❖ Partie théorique contenant trois chapitres :

Le premier chapitre sera réservé à des généralités sur l'espèce étudiée *Spirulina platensis*.

Le deuxième chapitre présente la biochimie de cette espèce.

Et le troisième chapitre nous apportons l'application et l'activité thérapeutique de la spiruline.

❖ Partie théorique contenant deux chapitres :

Le premier chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail.


Le deuxième chapitre illustre et interprète les différents résultats obtenus au cours de la présente étude. Et il sera alloué à une discussion générale des résultats obtenus.

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



Synthèse

Bibliographique



Chapitre 01
Généralités
sur la spiruline

Chapitre 01 : Généralités sur la spiruline.

1. Historique

Les algues sont au menu des humains depuis la nuit des temps. Elles sont un aliment de base en Chine et au Japon dès la préhistoire. En Europe pendant l'antiquité, les algues sont utilisées comme aliments pour le bétail, colorants et médicaments contre les vers parasitaires¹³.

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

➤ Au XV^{ème} siècle

Sur les rives du lac Tchad, le vent pousse les algues vers le rivage où elles forment un épais tapis de verdure récolté par les *Kanembous*. Récoltée dans des pots d'argiles, la spiruline est égouttée à travers des sacs de tissus puis séchée au soleil. Par la suite, elle est transformée en galette baptisée le *dihé* et est vendue sur le marché local. Le *dihé* est émietté dans une sauce composée de tomates, de piments, d'épices et accompagne le mil pilé cuit à l'eau¹⁴.

La légende raconte que les femmes enceintes consommaient abondamment le *dihé*, persuadées que la couleur sombre du *dihé* protégerait leurs fœtus du mauvais œil¹⁵.

➤ Au XVI^{ème} siècle

À leur arrivée dans la vallée du Mexique, les conquistadors espagnols découvrent « une nouvelle nourriture » que les Aztèques appelaient le *tecuilat* signifiant « excrément de pierre » parce qu'ils pensaient qu'il était produit par les minéraux. Récolté à l'aide de filets très fins à la surface du lac Texcoco, il était ensuite transformé en gâteaux d'une couleur bleu-vert¹⁶.

- L'histoire relate aussi que l'empereur Moctezuma II raffolait de poisson frais. Or ce dernier vivait dans un palais situé à 200 m d'altitude et à 300 km de la mer. À une époque où il n'y avait ni chevaux, ni glace pour conserver les aliments puisque le climat était tropical, le transport de cette denrée périssable était confié à d'athlétiques coursiers qui se relayaient pour apporter du poisson frais à leur empereur grâce à la consommation de *tecuilat*¹³.

- À la fin du XVI^{ème} siècle le *tecuilat* tombera dans l'oubli probablement après l'assèchement des lacs au profit des développements urbains et agricoles. Le lac Texcoco représente de nos jours le seul vestige de cette époque.

➤ De 1844 à 1959

En 1844, près de Montevideo, deux chercheurs, Wittrock et Nordstedt, signalent la présence d'une « microalgue » bleu-vert hélicoïdale baptisée *Spirulina jeneri f. platensis*. C'est en 1852, que sera publié le premier rapport taxonomique rédigé par Stizenberger qui lui donne le nom d'*Arthrospira* en raison de sa forme en hélice et de sa structure multicellulaire. Puis en 1940 pendant la seconde guerre mondiale, Y. Creach, une pharmacienne des troupes coloniales Françaises stationnée à Fort Lamy, aujourd'hui Ndjamenas, découvre les galettes d'algues séchées appelées *dihé*, et s'y intéresse de près. Elle en rapporte quelques échantillons pour les analyser et les identifier ¹³.

En France le botaniste Dangeard rapporte l'expérience d'Y. Creach, et fait une présentation à la société Linnéenne de Bordeaux en 1940 en mentionnant pour la première fois l'utilisation de la spiruline en alimentation humaine. Publié pendant la guerre, son compte rendu passera inaperçu ¹⁷.

En 1959 l'anthropologue Max-Yves Brandily publie dans science et avenir un article sur ces gâteaux d'algues pleins de sable, intitulé : « depuis des lustres une tribu primitive du Tchad exploite la nourriture de l'an 2000 » ¹³.

Dans les années 1960 ¹⁸

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

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

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

-En 1970, l'Américain Ripley FOX docteur en microbiologie voit en la spiruline un complément nutritionnel par excellence, et la solution au problème de la faim dans le monde. Il décide d'en faire un outil politique humanitaire. En 1971, il fonde une association ACMA (Association pour Combattre la Malnutrition par l'Algoculture) qui développe le concept de ferme de spiruline¹⁹.

-Parallèlement, en 1970, un rapport du Dr Hiroshi Nakamura (microbiologiste président du comité de développement de la spiruline au Japon) indique toutes les caractéristiques de la spiruline. Ce scientifique japonais a réuni les études concernant « l'algue » qui avait été utilisée comme nourriture pendant le blocus Américain, durant la seconde guerre mondiale. Son rapport sera publié en 1978, dans l'ouvrage « Food from Sunlight » du Dr Christopher¹⁸.

-En 1974, la spiruline est déclarée « aliment de santé supérieur du XXIème siècle » lors de la conférence internationale sur les protéines microscopiques et la conférence alimentaire des Nations unies¹³.

La première expérience industrielle a lieu au Mexique avec Hubert Durand Chastel par le biais de la société Sosa Texcoco. La spiruline sèche arrivera sur les étagères des magasins de santé Américains en 1979¹³.

L'usine du Mexique fermera ses portes mais la relève sera assurée par l'entreprise *Earthrise Spirulina Company* aujourd'hui leader mondial sur le marché de la spiruline¹³.

En 1984, c'est au tour de la Chine de se lancer dans la production de spiruline à l'état naturel (dans le lac Chenghai)¹⁹.

D'autres exploitations s'ensuivront un peu partout dans le monde. Grace aux progrès faits sur les techniques de culture, l'Europe est entrée dans la course et les productions à petite échelle se développent dans les pays en voie de développement¹³.

➤ En France

Jean-Paul Jourdan est l'un des plus grands spécialistes de la spiruline. Diplômé du MIT (Massachusetts institute of technology), il a fait sa carrière dans l'industrie chimique avant de consacrer sa retraite, dans le sud de la France, au développement de la spiruline en faveur des enfants des pays en voie de développement (PVD). Après avoir été l'élève de R. Fox il a collaboré activement avec des ONG (Organisation non gouvernementale) dont les programmes impliquent la spiruline. Il est à l'origine d'un ouvrage de référence, disponible

sur internet et régulièrement remis à jour, dans lequel il partage son expérience pratique de plusieurs années de production de spiruline ²⁰.

Enfin, au début des années 1990, l'organisation humanitaire Suisse Antenna Technologies, renoue avec le projet de Fox. Cette ONG pense que la spiruline peut résoudre le problème de la faim dans le monde. Afin d'asseoir la crédibilité scientifique de son programme, Antenna Technologies financera quelques études sur la spiruline ²¹.

➤ En Algérie

La spiruline est une cyanobactérie micro-algue qui, d'après les spécialistes, est apparue sur terre il y a 3 Milliards d'années. C'est l'une des premières formes de vie sur la terre, elle a contribué et continu à contribuer au développement de la vie sur la terre.

La spiruline se développe naturellement entre les tropiques dans son milieu naturel, en Afrique dans les régions des grands lacs, la vallée du rift, le lac Tchad, dans le massif du Hoggar, en Amérique du sud, au Pérou, au Mexique et en Inde.

La spiruline eut même un rôle primordial dans l'apparition et le développement du vivant sur la terre puisque comme toutes les cyanobactéries, elle permet par photosynthèse de produire de l'oxygène. En consomment du gaz carbonique.

Elle est également consommée en Afrique, au Tchad, les populations anciennes d'Afrique et d'Amérique du sud consommaient la spiruline car ils connaissaient les vertus de cette micro algue.

Elle est reconnue pour renforcer de façon puissante le système immunitaire. C'est l'un de ses bienfaits principaux dont attestent plusieurs études.

Il y a plusieurs millions d'années, les conditions climatiques dans le massif cristallin du Hoggar favorisaient la croissance à l'état naturel de la spiruline. Une activité volcanique et tectonique marine, une activité volcanique d'atmosphère, une pluviométrie importante, une température adéquate de l'eau et l'activité solaire, tout cela, a créé les éléments nécessaires au développement de la spiruline en grande quantité. A cette époque-là, des milliers de tonnes de spiruline quantités de spiruline à l'état naturel.sont produites naturellement chaque jour et ce pendant des millions d'années.

Actuelle ces conditions sont réunies le long de la vallée du rift (Kenya et Tanzanie) où se développent de grandes.

La spiruline du Hoggar (FOXBEHATAM) ressemble à la Paracas, peut-être qu'avant l'ouverture de l'atlantique c'était la même souche (Figure 1).

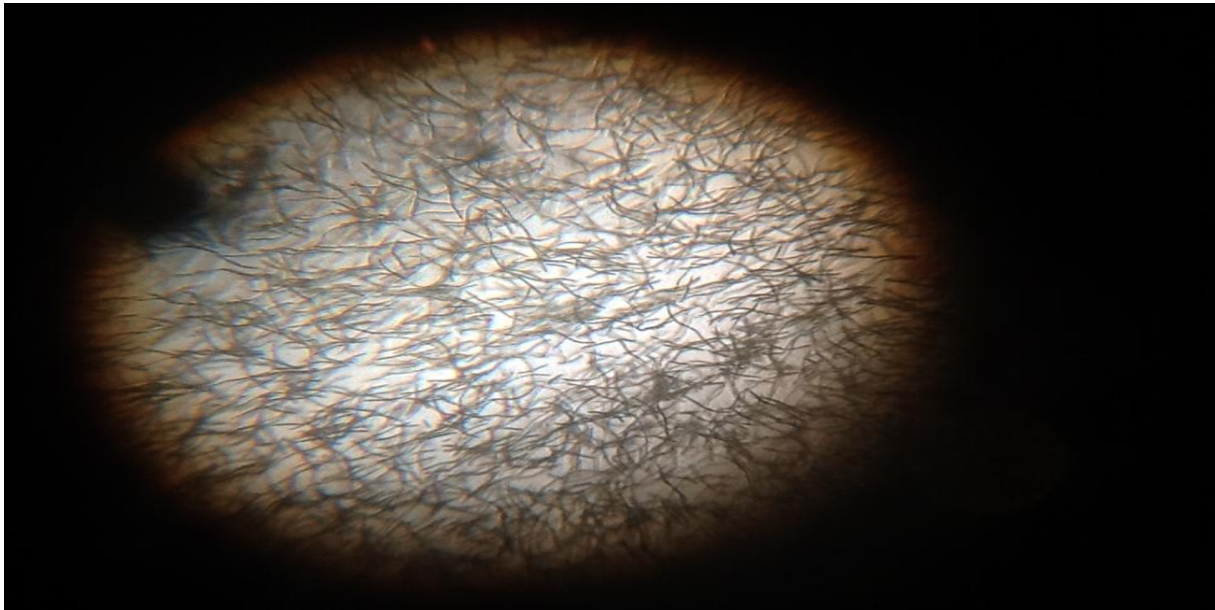


Figure 1 : Spiruline FOXBEHATAM.
(Fox Ripley Boileau Etienne Hiri AbdelKader Tamanrasset)
La spiruline du Hoggar.

Quelques filaments de la spiruline du Hoggar ont été trouvés dans une guelta dans le massif du Hoggar dans les années 1980 par Dr. Boileau Etienne, analysés par Dr. Fox Ripley, localisé et développée par Dr. HIRI AbdelKader.

Tout a commencé en 1998, lorsque Kadda a rencontré le Docteur Ripley Fox en France, grâce à son ami Jean-Paul Jourdan. Il a alors pu voir le travail de recherche scientifique qu'il avait réalisé : il s'agit d'un travail de longue haleine ayant abouti sur le projet de nourrir 30 millions d'enfants dans le monde. Ce fut une révélation pour Kadda qui lui a alors dit « mais Ripley, vous êtes un saint ! ». Quand on pense que dans le monde, toutes les 4 secondes, un enfant meurt de faim, alors on se dit que cela vaut le coup de s'investir, de faire partie de cette équipe universelle, extraordinaire des promoteurs de la spiruline qui luttent sans compter pour aider les plus démunis.

Les bassins ont démarré grâce au soutien de son ami Jean-Paul Jourdan qu'il n'a pas cessé de solliciter par courrier électronique pour recevoir de multiples conseils techniques. Grâce aussi à l'aide de sa femme qui est là pour l'assister. Kadda est content car maintenant la culture de la spiruline va pouvoir se développer à Tamanrasset et à partir de là, il l'espère, s'étendre dans toute l'Algérie.

Entre les 18 et 25 Avril 2004, des scientifiques, chercheurs et responsables d'ONG ayant une expérience de la culture et des utilisations de la spiruline sont venus de France sur

invitation de Kadda Hiri et grâce à l'intervention de l'ONG française « Targuinca ». L'objectif était non seulement de se rencontrer entre amis travaillant pour la promotion et le développement de la micro-algue spiruline, mais aussi, et surtout, d'informer les représentants des administrations locales, des services de la santé, de l'agriculture et de l'enseignement sur l'intérêt du développement de l'algoculture dans la région de Tamanrasset.

Les réunions se sont tenues dans l'enceinte du Bordj 4x4-Tam, un hôtel-restaurant-camping appartenant à Kadda Hiri. Ce dernier expérimente la culture et les utilisations de la spiruline depuis 5 ans, d'abord dans son jardin, puis dans ce Bordj où il a installé des bassins totalisant 16 m² et capables de produire un maximum de 20 kg/an. Dans des phases ultérieures Kadda prévoit de produire sous serre et à plus grande échelle sur des terrains de plusieurs hectares, tout en diffusant la technique de culture familiale dans les villages pauvres du Hoggar.

Un excellent programme touristique a complété les travaux du colloque, avec la visite d'un haut-lieu de cette région, l'Assekrem.

2. Définition

On connaît actuellement quelques 25 000 espèces d'algues sur la planète Terre., Parmi elles, on peut distinguer une algue bleue microscopique, il s'agit de la *Cyanobactérie Arthrospira Platensis* (Figure 2), plus connue sous le nom de Spiruline²². Elle fait partie des micro-organismes : ni végétale ni animale²³. Ce groupe comprend l'ensemble des bactéries autotrophes, c'est-à-dire capables d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse²⁴.

C'est une algue microscopique en forme de spirale, la spiruline est une des premières formes de Vie sur la planète Terre²⁵. Elle appartient à l'embranchement des procaryotes, car elle n'a pas de noyau bien individualisé.

En effet, elle est longtemps restée classée parmi les « algues bleu-vert », ce pour plusieurs raisons :

- son habitat aquatique,
- la présence d'un système photosynthétique producteur d'oxygène,
- son aptitude à développer des biomasses importantes,
- sa morphologie proche de celle des algues,
- sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle)²⁴.

Le miracle de la photosynthèse se produit : grâce à l'énergie lumineuse, une bactérie est désormais capable de transformer le gaz carbonique en matière organique, au cours d'un processus complexe qui dégage de l'oxygène. Ceci a permis l'enrichissement de l'atmosphère en oxygène (O₂) puis la formation d'ozone (O₃) protégeant ainsi la Terre des rayonnements ionisants¹². Les milieux où on trouve de la spiruline à l'état naturel sont des étendues d'eaux généralement ensoleillées et relativement chaudes (environ 30-35°C)²⁴.

En pratique, il faut retenir que le terme —spiruline correspond au nom commercial d'une espèce de cyanobactérie alimentaire appartenant toujours au genre *Arthrospira*. Le mot —Spirulina est le nom commercial anglophone de la spiruline, mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné de *Arthrospira*, et surtout non comestible (par exemple : *Spirulina major*, *Spirulina subtilissima*, *Spirulina princeps*, *Spirulina gigantea* ou *Spirulina subsalsa*)¹⁹.

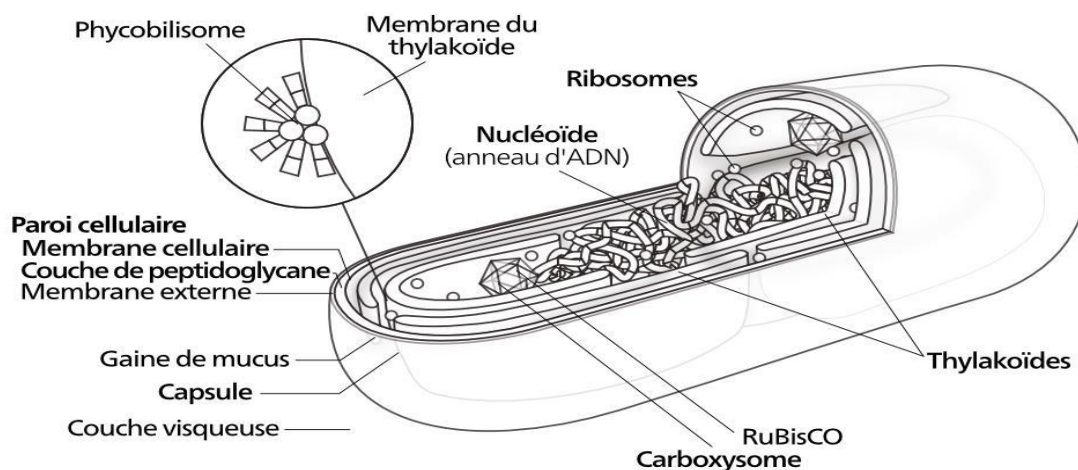


Figure 2 : Schéma de la structure d'une cyanobactérie.

➤ **Appellation :**

Il faut retenir que le terme “Spiruline” correspond au nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre *Athrospira*. “*Spirulina*” est le nom commercial anglais de la même cyanobactérie¹⁹.

La spiruline avait dans le passé, différents appellations dont on peut citer¹⁹:

- La Potion magique : Mentionnée par Christophe Colomb ;
- Le Dihé : Par les Kanembous, tribu du Tchad;
- Le Tecuitlatl : Par les Aztèques.
- Spiruline^R Nom commercial d'une cyanobactérie appartenant toujours au genre

Arthrospira ;

- *Spirulina*^R Nom commercial anglais de la même cyanobactérie
- Nom scientifique et taxonomique d'une autre cyanobactérie fort éloignée des *Arthrospira*.
- *Spirulina* Aucune à ce jour n'a été étudiée sous l'angle de l'alimentation humaine, et aucune n'est commercialisée à cette fin ;
- *Arthrospira* Nom scientifique et taxonomique d'un groupe de cyanobactérie auxquelles appartient notre spiruline alimentaire.

3. Classification

La spiruline appartient à l'ordre des Nostocales (Oscillatoriales), la famille des *Oscillatoriaceae*, le genre *Oscillatoria* et le sous genre *Spirulina* ou *Arthrospira*²⁶.

La spiruline est classée selon Ripley Fox (1999) dans :

Règne	<i>Monera</i>
Groupe ou Sous Règne	<i>Procaryotes</i>
Embranchement	<i>Cyanophyta</i>
Classe	<i>Cyanophyceae</i>
Ordre	<i>Nostocales (Oscillatoriales)</i>

Les *Nostocales* sont des cyanophycées filamenteuses, unisériées, ramifiées (fausses ramifications simples ou géminées) ou non ramifiées. Elles se multiplient le plus souvent par hormogonies pluricellulaires et parfois par akinètes.

Les *Oscillatoriaceae* se caractérisent par des trichomes cylindriques, unisériées, simples, qui sont atténués parfois à l'apex par une courbure ou par la présence d'une coiffe, mais jamais en poils articulés. Les trichomes sont nus ou pourvus d'une gaine. Il n'y a pas de ramification et pas d'hétérocyste. Les trichomes sont libres, solitaires et dépourvus de gaine. Ils sont droits ou flexueux et parfois tordus en une hélice régulière²⁶.

Le sous genre *Spirulina* qui groupe les espèces à trichome régulièrement enroulé en hélice plus ou moins serrée, soit une trentaine d'espèces dans les eaux douces en généra²⁷. Leur déplacement s'effectue en se vrillant dans l'eau à la façon d'une vis. Les spirulines sont

abondantes dans les eaux salées et natronées sahéliennes, et une espèce *Spirulina platensis* forme des fleurs d'eau particulièrement denses ; dans certaines régions du Tchad (Kanem)²⁸.

Cette micro-algue change de forme en fonction des caractéristiques physiques et chimiques du milieu dans lequel on la trouve. Mais on remarque aussi que dans un même milieu, on trouve des variétés de formes¹⁹.

4. Distribution géographique dans le monde

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi tropicales²⁹; son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud.

Aussi, sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande) (Tableau 1).

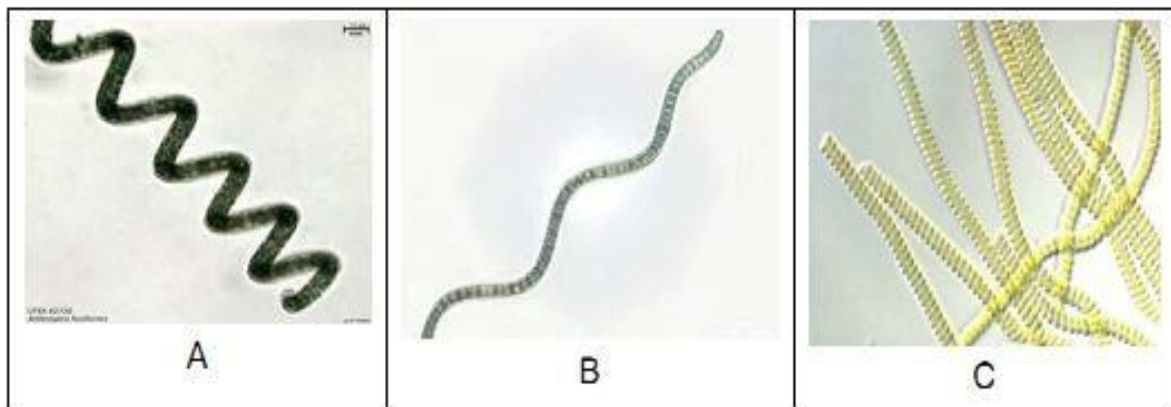
Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe.

Tableau 1 : Sites géographique où pousse naturellement la spiruline¹⁹.

Noms des pays	Localisation précises
AFRIQUE	
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs latir, Ouna, Borkou,
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Nakourou, Chiltu, Navasha
Congo	Mougounga
Tunisie	Lac Tunis, Chott El Jerid
ASIE	
Inde	Lacs Lonar et Nagpur, Lacs Twyn Ttaung
Thaïlande	Mares près de Lahore
Sri Lanka	Lac Beira
AMERIQUE DU SUD	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Presqu'île d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lacs Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac Quiliotoa
AMERIQUE DU NORD	
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
EUROPE	
France	Camargue

5. Morphologie et caractères généraux

La spiruline a une longueur moyenne de 250 μm quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12 μm de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline». Cependant les spirulines présentent différentes formes. On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites (Figure 3). Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat ^{26 ; 30}.



A = Forme spiralée (*Arthrospira fusiformis*) ; B= Forme ondulée (*Spirulina maxima*) ;

C = forme spiralé *Arthrospira platensis*

Figure 3: Morphologies typiques de la spiruline ²⁶.

Plus précisément, la spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice. Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis.

Le système pigmentaire de la spiruline est constitué de chlorophylle a; de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine) ; de caroténoïdes (β -carotène, cryptoxanthine).

6. Cycle biologique

Le filament de spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécriides. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies (Figure 4).

Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale³¹.

En conditions expérimentales, le temps de génération (passage d'une génération à une autre) maximal de la spiruline est de l'ordre de 7 heures³².

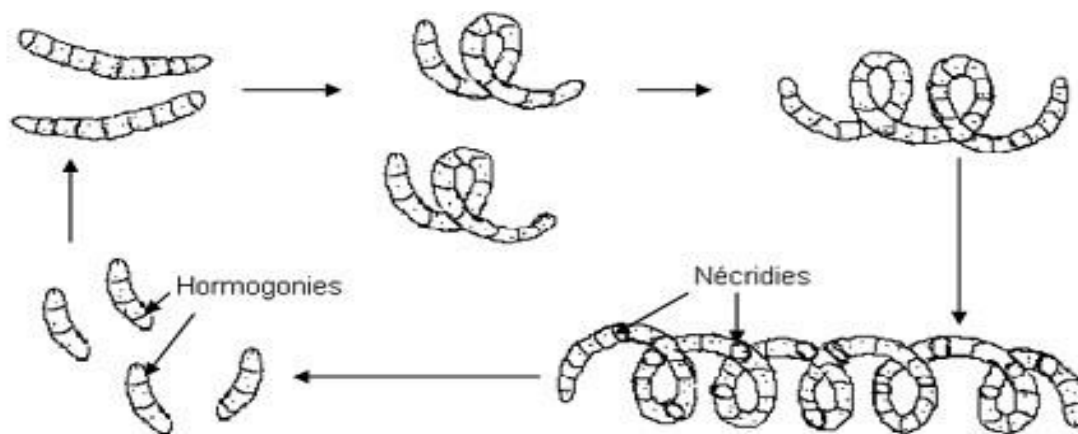


Figure 4: Cycle biologique de la spiruline²⁶.

7. Production de spiruline

7.1.1. Production artisanal

Historiquement, ce mode de culture a été initié par Ripley FOX pour lutter contre la malnutrition dans les pays en voie de développement. Durant ces dernières années ce mode de production n'a cessé de croître, soutenu par de nombreuses ONG.

Ce sont des systèmes nécessitant de faibles apports en énergie. Les moyens mis en œuvre peuvent être rustiques, faisant appel au bon sens de l'ingénierie. Néanmoins, certaines fermes artisanales peuvent présenter des caractéristiques de ferme semi-industrielle. La qualité de la production est contrôlée tout au long de la production. Elles sont destinées à l'humanitaire ou en partie à la commercialisation²⁶.

7.1.2. Production semi-industrielle

Dans les pays en voie de développement, les fermes semi-industrielles utilisent les mêmes technologies que les fermes artisanales. Elles sont destinées à l'humanitaire et à la commercialisation. Leur objectif est d'être pérenne et autonome grâce à la vente de leur produit²⁶.

7.1.3. Production industriel

Représentée depuis plus de vingt ans par de grosses compagnies telles que *Earthrise* ou *Cyanotech*, elles se distinguent des précédentes par l'importance des moyens mis en

œuvre, leur capacité de production et leur objectif clairement commercial. La qualité est contrôlée de manière automatique par des systèmes informatisés ²⁶.

Tableau 2 : Différentes productions de spiruline et leurs caractéristiques ²⁶.

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

7.2. Culture de la spiruline

7.2.1. Milieu et conditions de culture

La spiruline croît naturellement dans les eaux saumâtres et les lacs salins. Elle est présente dans les eaux chaudes, douces et alcalines, ainsi que dans certains lacs d’Afrique (lac Tchad) et d’Asie (lac Lonar). La spiruline est également cultivée en milieu contrôlé notamment dans les photobioréacteurs grâce à la synthèse du milieu de culture.

7.2.1.1 Milieu de culture

Il s’agit d’une solution de sels minéraux et d’eau. Ce liquide doit apporter à la spiruline tous les éléments chimiques nutritifs qui lui sont nécessaires. Il s’agit de milieux très minéralisés riches en carbonate de sodium (Na₂CO₃) ou bicarbonate de sodium (NaHCO₃), d’une source d’azote fixé et d’autres minéraux ³³. Ce milieu est peu propice à la croissance d’autres végétaux, et d’autres formes de vie au vu de son pH fortement alcalin. Aujourd’hui, de nombreux pays ont mis en place des fermes à spiruline grâce à la synthèse du milieu de culture. Le plus connu et utilisé (milieu standard) est le milieu de *Zarrouk* ³³.

Les conditions de croissance répondent aux recommandations de Paul Jourdan le spécialiste français de la culture de la spiruline. Il a publié un livre sur la culture de la spiruline accessible en ligne. Elle fait l’objet d’une révision régulière ²⁰.

7.2.1.2 Conditions de culture

- **Conditions chimiques de croissance : composition du milieu de culture**
- ❖ **Eau** : elle doit être potable ou au moins filtrée, parfois stérilisée aux UV, avec une dureté faible. Il est nécessaire de s’assurer de l’élimination des algues étrangères ²⁰.

- ❖ **Alcalinité et salinité** : Pour des raisons d'économie on se place au niveau minimal d'alcalinité 0,1 g/L et de salinité totale de 13g/L (ces valeurs peuvent être doublées sans inconvénients) ²⁰.

- L'alcalinité peut être apportée par le bicarbonate de sodium, la soude caustique, le carbonate de sodium (le natron).

- La salinité est apportée par des fertilisants et du sel (chlorure de sodium).

Le sel de cuisine peut être utilisé mais il contient souvent 2% de magnésium insoluble pouvant être à l'origine d'excès de boues minérales ²⁰.

Les fertilisants autorisés dans l'agriculture biologique (AB) sont des composés minéraux ayant une origine organique. Ils proviennent par exemple du compostage de fumier.

- ❖ **Autres composants : les fertilisants**

En plus du bicarbonate de sodium et du chlorure de sodium, on retrouve des fertilisants qui assurent la croissance de la spiruline.

-Trois éléments indispensables : l'azote (N), le phosphore(P), le potassium(K).

-D'autres minéraux : le soufre (S), le magnésium (Mg), le calcium (Ca), et le fer (Fe). On s'assurera que ces éléments ne soient pas en excès dans le milieu de culture puisqu'ils peuvent être apportés en quantité suffisante par l'eau, le sel et les engrais.

Les sources d'azote préférées des spirulines sont l'ammoniac et l'urée, mais on leur préfère le nitrate en raison de leurs toxicités au-delà de la concentration limite. Les limites des concentrations admissibles des différents éléments.

Il existe aussi des méthodes de production sans produits chimiques mais elles sont assez difficiles à mettre en place ²⁰.

- **Conditions physiques de croissance**

- ❖ **Température**

La température du liquide de culture influence directement la vitesse de croissance de la spiruline. Bien qu'assez résistante au froid (jusqu'à 3-5°C), la spiruline ne commence à croître d'une manière appréciable qu'au-dessus de 20°C. La vitesse de croissance est maximale vers 35-37°C. Au-delà de cette température, on risque rapidement une destruction de la culture.

- ❖ **Lumière**

Une très forte lumière (plein soleil) peut être dangereuse si le milieu de culture est

- froid (moins de 14-15°C), surtout en cas d'illumination brutale

- très chaud, ce facteur serait à l'origine d'un échauffement supplémentaire

- très diluée (disque de Secchi10 de plus de 6 cm)
- en difficulté (suite à un accident)

Par contre, une culture en bonnes conditions de concentration et de température pourra être exposée avec profit à un maximum de lumière naturelle. On réduit volontairement la luminosité par ombrage si l'on désire freiner la croissance de la spiruline, ou si l'on se trouve dans l'un des quatre cas précédents.

7.3. Agitation du milieu de culture

Les fréquences d'agitation varient suivant le mode d'agitation, les conditions de culture et de la souche cultivée.

Elle permet une dispersion homogène de la spiruline dans le milieu, favorise les échanges gazeux (l'élimination de l'oxygène et l'absorption de gaz carbonique), ainsi que son exposition à la lumière.

Une agitation trop violente endommage la spiruline et provoque l'apparition de mousse²⁰.

7.4. Récolte

Les huit étapes de la récolte à l'emballage final sont¹⁶ :

1. Filtration et nettoyage dans le bassin de culture,
2. Pré-concentration : la biomasse est lavée à l'eau pour réduire la teneur en sel,
3. Concentration pour retirer le maximum d'eau de la biomasse,
4. Neutralisation à l'aide d'une solution acide,
5. Désintégration à l'aide d'un broyeur pour briser les trichomes,
6. Déshydratation par séchage : pulvérisation ou atomisation (étape qui coûte de 20 à 30% du coût total de la production),
7. Emballage de la poudre sèche dans des sacs scellés,
8. Stockage dans des réserves sèches, fraîches, non éclairées, et propres.

La spiruline est récoltée après une période de 7 jours, l'eau des bassins est alors pompée puis filtrée deux fois (filtres de 60 µm) afin d'obtenir une pâte de spiruline humide, lavée à l'eau douce, filtrée à travers des mailles très fines (de l'ordre de 35 à 40 microns, filtre inclinant ou vibrant) puis un pistolet extrudeur permet de transformer la biomasse en filaments, comme des spaghettis. Ces derniers sont séchés à basse température et concassés pour obtenir une poudre de spiruline.

7.4. Séchage

Le séchage solaire est trop inconstant pour être utilisé. Les spiruliniers utilisent un séchage ventilé à basse température permettant de ne pas dénaturer la spiruline et donc de conserver ses qualités intrinsèques. Le *spray-drying* utilisé dans les grosses industries fait baisser le taux de vitamines et notamment de vitamine E. L'étude publiée en 2004 par Desmorieux¹ montre que pour avoir une meilleure conservation des sucres, des protéines et de la structure des filaments, il faut préférer l'utilisation de séchoir à basse température. Il est par ailleurs dommage que les concentrations en constituants les plus fragiles de la spiruline, à savoir les vitamines et l'acide γ -linoléinique n'aient pas été étudiées avant et après séchage.


7.5. Conditionnement

En Algérie, la spiruline est retrouvée en vrac sous forme de poudre broyée, de gélules ou de comprimés. Ces derniers ont parfois des concentrations en excipients élevées jusqu'à 20 à 30% d'amidon, agissant comme liant, et 0,1% de silice comme agent de compression.

7.6. Tests avant la mise sur le marché

Pour une spiruline de qualité, il faut du personnel respectant les normes d'hygiène et de qualité de type ISO et HACCP à toutes les phases de la chaîne : ensemencement, maturation, récolte, séchage, conditionnement avec une surveillance et une traçabilité continue et optimale.

Il existe des normes de qualité et de sécurité³⁴ encadrant la vente de spiruline, normes qui garantissent l'origine, la conformité, les techniques de récolte, de séchage et de conditionnement. Elles seront revues dans la troisième partie sur la sécurité et contiennent un test de microbiologique, de composition chimique, un contrôle du taux en métaux lourds et la recherche de la présence de pesticides et de matières étrangères.



Chapitre 02
Biochimie
de la spiruline

Chapitre 02 : Biochimie de la spiruline.

1. Compositions biochimiques de la spiruline

De manière générale, la spiruline est composée de 70% de protéines, 15% de glucides, 5% de lipides, 7% de minéraux et de 3% d'eau comme il est montré dans la figure 6. Cette composition est très complète et variée : avec un excellent apport en protéines, une bonne répartition des lipides, des glucides, des vitamines, des minéraux et des oligo-éléments³⁵.

1.1. Composition en protéines et acides aminés

Selon les souches et les conditions de culture, la quantité de protéines d'*Arthrospira platensis* varie de 55 à 70 % du poids sec³⁵.

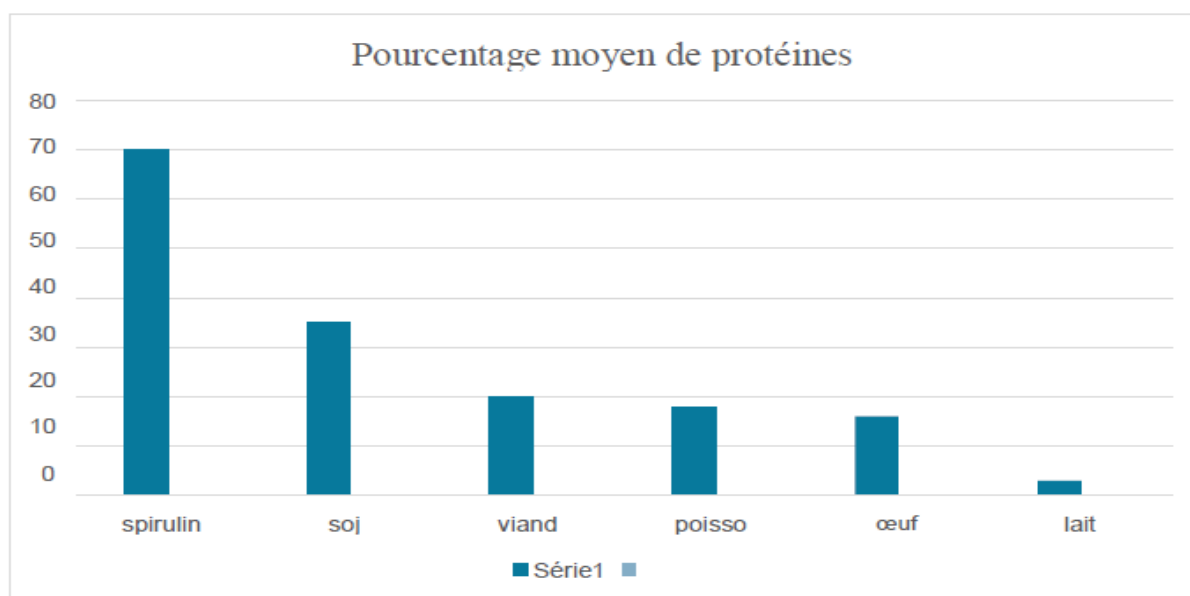


Figure 5 : Diagramme de positionnement de la spiruline par rapport à d'autres aliments en termes de protéines³⁵.

Par sa composition protéique, la spiruline est un aliment très riche. Ainsi, comme l'indique le tableau ci-dessus (Tableau 3), la spiruline contient la plupart des acides aminés et notamment tous les acides aminés essentiels constituant près de 60% du poids total des protéines. Les plus fortes teneurs sont celles de la leucine, la valine, et l'isoleucine. Les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) ainsi que d'autres non-soufrés (tryptophane, lysine et l'histidine), essentiels chez l'enfant, sont peu abondants, ce qui relativise sa richesse protéique.

Le tableau 3, montre la composition qualitative et quantitative moyenne en acides aminés de la spiruline.

Tableau 3 : Composition en acide aminés de la spiruline ³⁶.

Acides aminés	%	Acides aminés	%
Asp	0.9	Met*	0.8
Thr*	0.5	Ile*	1.3
Ser	0.6	Leu*	0.8
Glu	1	Tyr	3.3
Pro	0.3	Phe	2.5
Gly	0.6	His	4.7
Ala	1	Lys*	1.9
Val*	1.3	Arg	2.1

Non inclus Trp* et Cys * Acide aminé essentiel.

Concernant les protéines, l'Utilisation Protéique Nette est une notion importante. Ce micro- organisme ne possède pas de paroi cellulosique mais une enveloppe relativement fragile, constituée de polysaccharides. Cette faible teneur en cellulose explique sa digestibilité de l'ordre de 75 à 83% ³⁷. De ce fait, la spiruline ne nécessite pas de cuisson ni même l'administration d'un traitement spécial pour une bonne digestibilité protéique. Au bout de 18 h, 85% des protéines sont digérées et assimilées. La NPU de la spiruline est de 83% à 90% et est d'autant plus intéressante lorsqu'elle est comparée à celle des lentilles (30%), de la viande de bœuf (15%) ou du lait de vache (12%) ³⁸.

1.2. Lipides

Les lipides de la spiruline qui représentent environ 5 à 6 % de son poids total, ce qui en fait un aliment pas très gras, mais ce pourcentage peut atteindre 11% selon les modes d'extraction ou la souche de spiruline utilisée ³⁵. Un équilibre optimal entre les oméga-3 et 6, garant d'une bonne santé cardiovasculaire est observé ³⁹.

La matière grasse présente dans la spiruline se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) et une fraction insaponifiable (17%).

a. Acides gras ou fraction saponifiable

Les acides gras font partie intégrante des lipides qui sont des nutriments indispensables au système nerveux, système cardiovasculaire et à la peau. Ils jouent un rôle énergétique et constituent au maintien de la chaleur corporelle. De plus, ils véhiculent les vitamines liposolubles (A, D, E, K) et contribuent à leur absorption. La fraction saponifiable, représentant 4,9 à 5,7% de la matière sèche de la spiruline, est essentiellement composée de mono-galactosyl diglycérade et de digalactosyl diglycérade (23%), de sulfoquinovosyl diglycérade (5%) et de phosphatidyl glycérol (25,9%) ⁴⁰.

Les triglycérides ne sont présents qu'à de très faibles taux (0,3%). La phosphatidyl choline, la phosphatidyl éthanolamine et le phosphatidyl inositol ne sont pas présents en quantité appréciable.

La composition des principaux acides gras de trois espèces de spiruline révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels (acides gras insaturés C18) (voir tableau 4)

Ces acides gras incluent les oméga-3 et des oméga-6 qui sont qualifiés d'essentiels car l'organisme humain en a absolument besoin et ne peut les produire.

Les acides gras omega-3 et oméga-6 de la spiruline préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme. Ceci pourrait expliquer en partie la diminution des taux en cholestérol et triglycérides observés lors des expériences de Ramamoorthy/Premakumari et Samuels. Ces expériences sur l'homme sont cependant réalisées avec de faibles effectifs et sur des sujets souffrant d'hyper cholestérolémie ou hyperlipidémie.

Tableau 4 : Composition en pourcentage des principaux acides gras pour trois espèces de spiruline ⁴¹.

ACIDES GRAS	<i>Spirulinapacifica</i>	<i>Spirulina maxima</i>	<i>Spirulina platensis</i>
• Palmitique (16:0)	44.2	63.0	25.8
• Palmitoléique (16:1) oméga – 6	4.4	2.0	3.8
• Stéarique (18:0)	Traces	1.0	1.7
• Oléique (18:1) oméga - 6	0.4	3.0	16.6
• Linoléique (18:2) oméga-6	24.3	13.0	40.1
• Gamma-linolénique (18:3) oméga-6	22.1	13.0	40.1
• Alpha-linolénique (18 :3) oméga-3	Traces	Traces	Traces

L'acide gamma-linolénique (non-essentiel car il peut être synthétisé à partir de l'acide gras linoléique) constitue 10 à 20% des acides gras (soit 1-2% du poids sec) chez *Spirulina maxima* et jusqu'à 40% chez *S. platensis*, (soit 4% du poids sec) (Voir Tableau 4). La spiruline figurerait parmi les meilleures sources connues d'acide gamma-linolénique, avec le lait humain, et quelques huiles végétales peu connues (huile d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre). La présence d'acide gamma- linolénique est à souligner du fait de sa rareté dans les aliments courants et que c'est un précurseur de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires ⁴¹.

Les sulfolipides tels les sulfoquinovosyl diglycérides qui représentent 5% de la fraction saponifiable, intéressent les chercheurs pour leur activité protectrice contre des infections virales. Le composant lipide sulfoquinovosyl diacylglycerol de *Spirulina platensis* riche en sulfolipides a démontré par expérience *in vitro* sa capacité à inhiber la transcriptase inverse du HIV-1 et du HIV-2 alors que ce dernier est naturellement résistant à cette classe de molécules. Le contenu en acide gras de la spiruline peut être modifié suivant les conditions de culture ⁴².

b. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable est composée essentiellement de stérols, de terpènes, d'hydrocarbures saturés (paraffines) et de pigments. Cette fraction représente 1,1% à 1,3% de la matière sèche de la spiruline ³⁹.

1.3. Glucides

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines ⁴¹, et 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 ⁴³.

Les sucres simples et les polyols ne sont présents qu'en très faible quantité. Les glucides assimilables sont représentés par du rhamnosanne et du glucosanne aminés, respectivement environ 2% et 10%. On note aussi la présence de glycogène (0,5%) ⁴⁴.

1.4. Vitamines

Il existe 13 vitamines, 4 liposolubles (A, D, E, K) et 9 hydrosolubles (B1, B2, B5, B6, B12, C, PP).

La spiruline contient de nombreuses d'entres elles et spécialement des vitamines B dans des proportions optimales.

a. Vitamines liposolubles

Les trois vitamines liposolubles trouvées chez la spiruline sont le β -carotène, précurseur de la vitamine A, la vitamine E et la vitamine D (Voir tableau 5).

Tableau 5 : Vitamines liposolubles contenues dans la biomasse de *Spirulina platensis* ⁴⁴.

Vitamines	Quantités
• β -carotène (provitamine A)	64 à 200 mg/100g
• Tocophérol (Vitamine E)	10 à 19 mg/100g
• Vitamine D	12000 U soit 0,3 mg/100g

❖ Bêta- carotène

Parmi les vitamines liposolubles, on note une teneur très élevée en β -carotène. Il représente 40 à 80% des caroténoïdes de la spiruline, le reste étant composé principalement (par ordre décroissant) de xanthophylle, de cryptoxanthine, d'échinénone, de zéaxanthine et de lutéine^{45,46}. On trouve entre 700 et 2000 mg de β -carotène et environ 100 à 600 mg de cryptoxanthine par kilo de spiruline sèche⁴⁷, ces deux caroténoïdes sont convertibles en vitamine A par les mammifères qui ne synthétisent pas cette vitamine⁴¹. Les besoins en vitamine A sont estimés chez l'adulte à moins d'un (01) mg par jour; d'autre part, la conversion du β - carotène en vitamine A se fait chez l'humain à 17 à 20% (en partie selon la dose de β -carotène absorbée)⁴⁸. Quelques grammes de spiruline suffisent donc à couvrir entièrement les besoins en vitamine A d'un adulte. D'autre part, l'absence de rétinol exclut un éventuel risque de surdosage, le β -carotène n'étant pas toxique par accumulation au contraire de la vitamine A.

La vitamine A est impliquée dans la croissance des os et la synthèse des pigments de l'œil. Divers travaux sur la supplémentation en vitamine A avaient suggéré une relation entre la carence en cette vitamine et le risque de transmission materno-foetale du virus HIV. Bien que ce sujet reste controversé⁷¹. Une étude récente de Wang et al. En 2008 portant sur des chinois adultes montre que l'ingestion de 4.5 mg de β -carotène provenant de la spiruline apporte 1mg de vitamine A.

❖ Vitamine E (tocophérols)

On note dans la spiruline des teneurs en vitamine E de la Spiruline variant de 13 À 120 mg/Kg³⁷ voire même 190 mg/Kg⁵⁰. Ces différences sont liées aux méthodes de dosage, aux conditions de culture, mais surtout de séchage de la spiruline. Il est très probable que le séchage par « spray-drying » qui brise très fortement les filaments de spiruline réduise considérablement la durée de conservation des vitamines sensibles à l'oxydation, dont la vitamine E⁴¹.

Les besoins quotidiens en vitamine E seraient de 15 U.I. ; Les besoins journaliers d'un enfant de 6 mois à 3 ans sont de 5.103 à 6.103 μ g ; si la biodisponibilité était de 100%, une dose de 10 g de spiruline couvrirait de 2 à 22 % de ces besoins soit 12 mg de tocophérols libres⁵¹. Les propriétés anti-oxydantes du tocophérol pour les acides gras insaturés pourraient expliquer la bonne conservation de ces derniers dans la spiruline séchée.

b. Vitamines hydrosolubles

La teneur en vitamines hydrosoluble de la spiruline, est représentée dans le (tableau 6).

Tableau 6 : Teneur en vitamines hydrosolubles (μg) par gramme de matière sèche de Spiruline ⁴¹.

Vitamine	Teneur ($\mu\text{g/g}$)
• B1 (thiamine)	34 – 50
• B2 (riboflavine)	30 – 46
• B3 (niacine)	130
• B5 (pantothénate)	4,6 -25
• B6 (pyridoxine)	5 – 8
• B8 (biotine)	0,05
• B9 (folate)	0,5
• B12 (cobalamine)	0,10 – 0,34*
• C (acide ascorbique)	Trace

❖ **Vitamine B12**

Une note technique de la firme « Cyanotech » mentionne une teneur totale en crinoïdes de 7 microgramme par gramme de spiruline et une fraction de 36% représentant la vitamine B12 assimilable par l'homme ⁵². Ces valeurs indiquent qu'un gramme de cette spiruline couvrirait plus de 80% des apports quotidiens en B12 pour un adulte. Quoiqu'il en soit de la spiruline, il est maintenant établi que bien d'autres sources alimentaires de vitamine B12, voire même les préparations multivitaminées synthétiques contiennent elles-aussi de fortes proportions d'analogues non-métabolisables par l'homme ^{53,54}. La vitamine C n'existe qu'à l'état de trace dans la Spiruline ⁴¹.

❖ **Bioptérine**

La spiruline contient une grande quantité de bioptérine (plus précisément l'alpha-glucoside de la bioptérine), qui semble jouer un rôle fondamental dans la protection de l'appareil photosynthétique contre les rayons UV ⁵⁴. Cette substance fortement fluorescente peut, chez l'homme, être convertie en un co-facteur enzymatique d'une très grande importance, la tétrahydrobioptérine. On ne peut considérer cette substance comme une vitamine, car elle peut être entièrement synthétisée chez l'humain; il existe toutefois des situations pathologiques liées à un manque de synthèse, situation qui peuvent être améliorée

par un apport externe de tétrahydro bioptérine ⁵⁵. L'efficacité de la bioptérine elle-même, par voie orale, n'est pas connue à ce jour ⁴¹.

1.5. Minéraux et oligo-éléments

La composition en minéraux de la Spiruline apparaît dans le (tableau 7). On observe une grande variabilité dans les teneurs. Elle s'explique par le fait qu'elles concernent les spirulines en milieu naturel et celles cultivées. En outre, il est possible d'augmenter les teneurs en minéraux des organismes cultivés ⁴¹.

Tableau 7 : Composition en minéraux de la spiruline en µg/g de sa matière sèche ⁴¹.

Minéraux	Teneur de la spiruline sèche (mg/kg)	Doses requises* (mg/jour)
• Calcium	1300-14000	1200
• Phosphore	6700-9000	1000
• Magnésium	2000-4000	250-350
• Fer	600-6000**	18
• Zinc	21-6000**	15
• Cuivre	8-2000	1,5-3
• Chrome	2,8	0,5-2
• Manganèse	25-37	5
• Sodium	4500	500
• Potassium	6400-15400	3500
• Sélénium	0.01-50**	0,05

*Pour l'adulte**Valeur obtenues par enrichissement spécifiques.

Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

❖ Fer

Les spirulines naturelles ont rarement des teneurs en fer dépassant 500 mg/kg bien que des valeurs supérieures à 1000 mg/kg aient été trouvées ⁵⁶. La spiruline de culture peut être enrichie en Fer et les teneurs obtenues peuvent être alors plus de 10 fois supérieures à celles présentées dans le (tableau 7).

❖ Zinc

La Spiruline cultivée ne contient généralement que des traces de Zinc (21-40 µg/g). Ces teneurs sont insuffisantes pour que la Spiruline soit considérée comme une bonne source en Zinc. Une Spiruline de Biorigin l'Azina titrerait 6000 µg Zn/g ⁴¹.

❖ Magnésium

La Spiruline est naturellement riche en Mg. Planes et al. (2002) ont montré par des études sur des cellules intestinales Caco-2 qu'un enrichissement en Mg n'améliorait pas la disponibilité en magnésium ⁵⁷.

❖ Sélénium

Le sélénium est un micro-élément essentiel à effet antioxydante. Il n'y a pratiquement pas de sélénium dans la spiruline naturelle mais il est possible d'enrichir la Spiruline en sélénium par addition de sélénite de sodium au milieu de culture ⁵⁸. Cases et al. ont montré la biodisponibilité par les rats du sélénium à partir de Spiruline fortifiée ⁵⁹.

❖ L'iode

Il est possible d'obtenir des souches de spiruline capables de fixer l'iode ⁶⁰ mais les sels d'iodes sont chers et la spiruline ne semble pas concentrer activement cet élément qu'en présence de cobalt qui s'avère carcinogène ⁶¹.

1.6. Métaux

Actuellement une douzaine de métaux sont reconnus comme essentiels pour l'organisme humain (Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Cr, Ni, Co, Mo, V). A forte dose certains de ces éléments essentiels sont toxiques (Cr, Ni, Co, Mn, V). Seuls quelques métaux sont considérés comme purement toxiques (Hg, Bi, Be, Ga, Tl, Ra, U...).

Beaucoup de métaux (Cd, Cr, Hg, Ni, Sn, Tl...) sont des polluants importants de l'environnement par suite de leur pouvoir d'accumulation dans les organismes vivants.

La spiruline, comme toute bactérie élevée en milieu contaminé en métaux lourds, a montré une forte capacité à fixer certains polycations, parmi lesquels le cadmium, le plomb, le chrome et le cuivre. D'un point de vue toxicologique, cette propriété pourrait s'avérer dangereuse si l'alcalinité élevée des milieux de culture de la spiruline ne limitait fortement la solubilité de la plupart des cations métalliques.

A noter que des fortes teneurs en métaux lourds n'ont été observées que pour les spirulines récoltées en milieu naturel, milieu pouvant être contaminé et où un contrôle de la teneur en contaminant est difficile. A l'inverse, les spirulines élevées en milieu artificiel

présentent des valeurs en métaux lourds très faibles. La toxicité des spirulines d'élevage semble de ce fait inexistante.

1.7. Enzymes

On retrouve plusieurs enzymes dans la spiruline dont le principal est le super-oxyde dismutase (SOD). Il s'agit d'une enzyme au fort pouvoir antioxydante intervenant dans la défense de l'organisme contre les radicaux libres ⁴¹.

1.8. Pigments

La spiruline est riche en pigments responsables de sa couleur. Les principaux pigments sont la phycocyanine et la chlorophylle. La phycocyanine est une phycobiliprotéine. Seul colorant bleu alimentaire naturel, elle est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue ^{62,63}. La chlorophylle est présente en proportion de 9-15 g/kg ⁶⁴. Les phycocyanines, composants de l'appareil photosynthétique des cyanobactéries, sont les protéines majeures de la spiruline. Naturellement colorées d'un bleu intense et pourvue d'une fluorescence rouge, elles sont responsables du bleuissement de la poudre de spiruline exposée trop longtemps à la lumière : moins sensible que la chlorophylle à la photo- destruction, leur couleur domine lorsque le vert chlorophyllien disparaît. C'est aussi aux phycocyanines que l'on doit l'intense couleur bleue qui apparaît plus ou moins rapidement lorsque l'on réhydrate de la spiruline séchée : l'éclatement des cellules libère ces protéines très solubles dans l'eau, alors que la chlorophylle reste associée aux débris cellulaires. Les phycocyanines ont donné lieu à de nombreuses recherches scientifiques, détaillées plus loin, démontrant l'incroyable potentiel thérapeutique de ces protéines.

La spiruline contient des chlorophylles dont la chlorophylle *a*, des caroténoïdes dont le principal est le β -carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine. Les teneurs en pigments de *Spirulina platensis* apparaissent dans le (tableau8).

Tableau 8 : Teneurs en pigments exprimés en en mg pour 10g de matière sèche de *Spirulina platensis* ⁶⁴.

Pigments	Teneur en mg/10g
• Chlorophylles totales	115
• Chlorophylle a	61-75
• Caroténoïdes (orange)	37
• Phycocyanine (bleu)	1500-2000
• Phycoérythrine (rouge)	2900-10000

Les teneurs en phycocyanine et phycoérythrine varient selon la souche et les conditions de culture. En effet, les teneurs en phycobiliprotéines (qui captent l'énergie lumineuse vers les photosystèmes) sont régulées par l'intensité de l'éclairage. Le (tableau 8) montre que la cyanobactérie *Spirulina platensis* est une excellente source de phycocyanine. D'après Vonshak(1997) la fraction protéique pourrait contenir jusqu'à 20% de phycocyanine⁶⁵. En outre, la forte teneur en ce pigment pourrait être d'un grand intérêt industriel. D'après l'étude de Fedkovic et al., 1993, les antioxydantes comme le β -carotène contenus dans la spiruline permettraient d'inhiber à la fois l'effet mutagène et l'effet régulateur induit par les radicaux libres, préservant ainsi nos tissus. Le β - carotène est d'autre part un précurseur de la vitamine A.

Tableau 9: Composition nutritionnelle de la spiruline et rôle de chaque composant ⁶⁶.

Composition nutritionnelle	Composition pour 10g	Rôle
• Protéines (végétales)	55 à 70 %	Construction du corps
• Glucides	15 à 25 %	Apporte de l'énergie à l'organisme
• Lipides	4 à 7 %	Réserve énergétique, fabrication des hormones, bon fonctionnement de l'organisme
• Minéraux	7 à 13 %	Voir plus bas
• Fibres	2 à 8 %	Amélioration du transit intestinal

Valeur énergétique : 38 kcal/10

❖ Phycocyanine

1. Principaux constituants de la phycocyanine

Les cyanobactéries possèdent une large variété de composants colorés incluant les caroténoïdes, les chlorophylles et les phycobiliprotéines.

Les phycobilisomes sont attachés en matrices régulières à la surface externe de la membrane du thylacoïdal, siège de la photosynthèse. Leur principale fonction est de servir de récepteur des rayons lumineux pour l'appareil photosynthétique de la spiruline et convertir cette énergie lumineuse en énergie électrochimique ; ces macro-complexes protéiques sont composées d'un cœur sur lequel sont fixées des projections radiaires (ou bras). Pour la

spiruline, le cœur est composé de molécules d'allophycocyanine entourées de molécules de phycocyanine périphériques ⁶⁷.

Les phycobiliprotéines, dont fait partie la phycocyanine, sont des chromoprotéines constitués d'une partie protéique et d'un pigment. Leur agrégation en complexe macromoléculaire forme le phycobilisome.

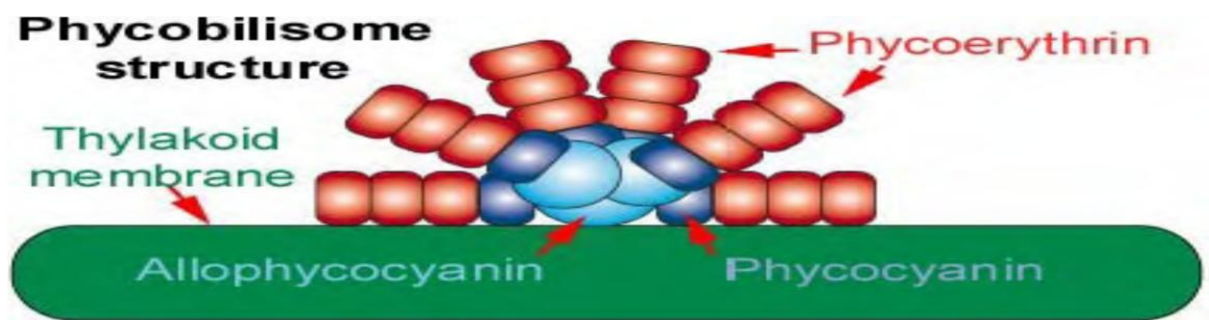


Figure 6 : Représentation schématique d'un phycobilisome classique.

Les phycobiliprotéines sont constituées d'une partie protéinique de haute masse moléculaire portant, par des liaisons covalentes, des chromophores à noyau tétra pyrrolique ouvert, responsables de leur couleur ⁶⁸.

Les principaux chromophores décrits sont :

- ✓ la phycocyanobiline,
- ✓ la phycoérythrobiline,
- ✓ la phycourobiline
- ✓ la cryptoviolette.

Chacun d'eux présente un spectre d'absorption spécifique modifié par les interactions avec l'apoprotéine ⁶⁹. Les principales phycobiliprotéines sont :

- ✓ l'allophycocyanine (APC),
- ✓ les phycocyanines (CPC),
- ✓ les phycoérythrines (R-PE et B-PE)
- ✓ la phycoérythrocyanine (PEC).

2. Définition de la phycocyanine

La phycocyanine est le principal pigment de la spiruline (10 à 20% du poids sec). Il se représente sous forme d'extrait liquide, il est un des rares colorants alimentaires naturels de couleur bleue. Il est vendu sous le nom de (linabule ou sérum bleu). Il est constitué d'une structure protéique reliée à un chromophore : molécule de phycocyanobiline constituée du

groupe bilin. Ce dernier est constitué du noyau tétra pyrrolique de la chlorophylle ouvert et sans magnésium ⁷⁰.

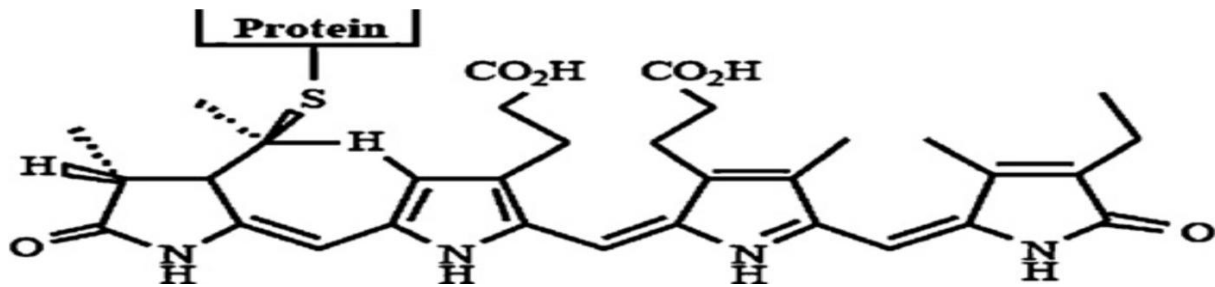


Figure 7: Formule de la phycocyanine.

3. Méthodes d'extractions de la phycocyanine

Divers chercheurs ont mis au point plusieurs méthodes pour l'extraction et purification de la phycocyanine citant (l'eau, congélation, extraction par des solvants,...).

Cependant, presque toutes ces méthodes d'extraction impliquent de nombreuses étapes de précipitation, centrifugation et dialyse dans la purification initiale, et la chromatographie échangeuse d'ions et chromatographie de filtration sur gel sont utilisés dans la purification finale ⁷¹.

Inconvénient majeur de ces protocoles est le grand nombre d'étapes impliqués, et il est connu que plus le nombre de marches plus haut plus la perte de rendement du produit n'est élevé. En outre, la mise à l'échelle de ces méthodes est difficile et cher. Il convient de noter que 50-90% du coût de production réside dans les étapes de purification. Par conséquent, il est nécessaire de chercher des méthodes efficaces de bio séparation à grande échelle, qui permettront d'atteindre de hautes puretés, ainsi que rendement élevé, tout en maintenant l'activité biologique des molécules. Une méthode de purification telle qui répond à tous ces critères est l'extraction aqueuse à deux phases extraction (ATPE) ⁷¹.

4. Utilisations de la phycocyanine

Divers aliments renfermant de la phycocyanine extraite de spirulines, sont commercialisés sous la marque "Linablue" crée par le groupe Dainippon Ink and Chemicals. Nous pouvons citer par exemple ⁷⁰:

- des chewing-gums
- sorbets
- sucettes glacées
- Bonbons
- boissons sans alcool

- gelées
- produits laitiers

La phycocyanine est une protéine colorée trouvée exclusivement chez les algues bleues. Elle n'est pas synthétisable par voie chimique. Elle est largement indiquée pour colorer en bleu certains produits alimentaires glacés ou sucrés du genre boissons glacés, crèmes glacées, pâtes, gâteaux et biscuits, etc.).

Elle peut-être, introduite comme composant dans des crèmes de soin de la peau, des masques de beauté et des produits solaires. Elle remplace avantageusement des pigments de synthèse considérés comme suspects.

A l'heure actuelle, les applications connues de la phycocyanine à échelle industrielle se limitent à quelques produits alimentaires (les massapains; les jus sucrés; les glaces, sorbets et accessoirement des chocolats) ou à quelques formulations cosmétiques (crèmes et gels).

2. Mécanisme de la photosynthèse

Lors de la photosynthèse, l'énergie lumineuse est convertie en énergie chimique. La lumière est absorbée par des antennes collectrices, puis transmise aux centres réactionnels(CR) des photosystèmes localisés dans la membrane des thylacoïdes, entraînant une libération d'électrons. Ces électrons libérés conduisent à la formation des molécules énergétiques : le NADPH et l'ATP. Ce processus correspond à (la phase lumineuse). La phase lumineuse est suivie par une phase dit (obscur) durant laquelle il y a synthèse de glucides en utilisant l'énergie produite en phase lumineuse, ainsi que le CO₂ et H₂O absorbés. L'interaction des deux photosystèmes permet l'absorption du CO₂, la production de la matière organique et de l'O₂ (figure 8).

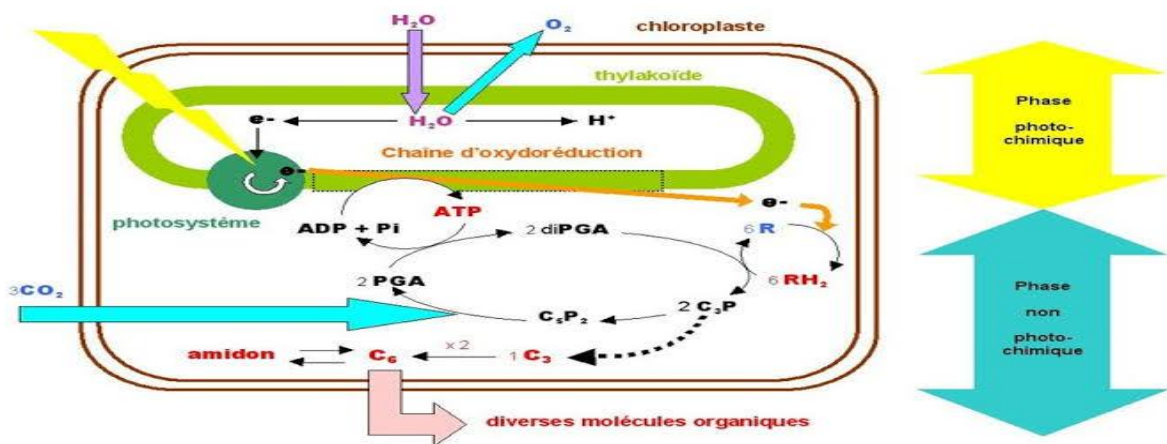


Figure 8 : Interaction des deux photosystèmes de la photosynthèse ⁷².

La photosynthèse se déroule dans les chloroplastes au niveau des membranes des thylacoides (figure 9). Différentes enzymes, des protéines et des pigments dont chlorophylles, caroténoïdes, phycobilines et autres participent à ce processus. Les pigments photosynthétiques sont associés à des photosystèmes I (PSI) et II (PSII), d'accepteurs et donateurs d'électrons qui présentent des complexes moléculaires P700 et P680 respectivement. En effet, ces pigments captent l'énergie lumineuse à l'aide d'antennes collectrices LHC (Light Harvesting Complex) qui est transférée par la suite aux photosystèmes.

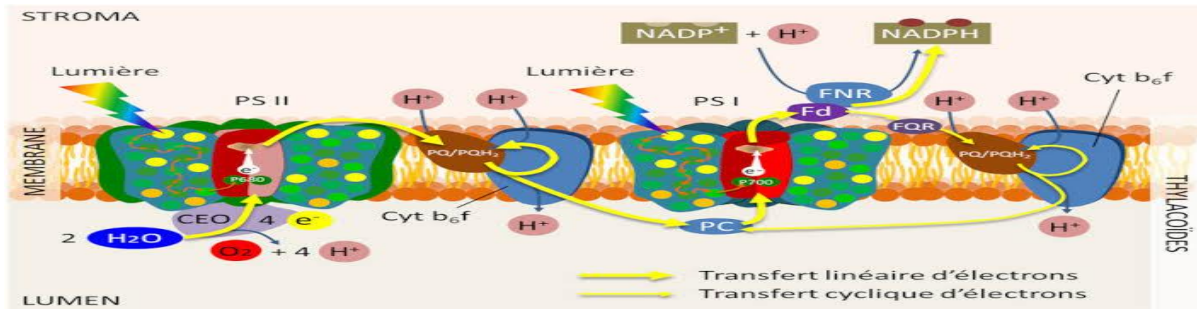


Figure 9: Représentation schématique de la membrane du thylacoïde ; lieu de déroulement de la photosynthèse⁷³.

❖ Phase lumineuse

Au sein du photosystème II, il y a excitation électronique de la chlorophylle qui va permettre l'extraction d'un électron (qui servira à la réduction du NADP⁺) à partir de la molécule d'eau (donneur primaire). Cet électron est transporté dans un premier temps jusqu'à des plastoquinones (PQ). Elles le cèdent par la suite à un complexe appelé cytochrome b₆/f (cytb₆/f) qui le transfère à une plastocyanine (PC).

La réduction de l'accepteur final intervient au niveau d'un deuxième centre réactionnel (PSI), elle permet de stocker du pouvoir réducteur dans la molécule de NADPH. L'oxydation de cette molécule ainsi que le gradient de protons généré par ces processus produira de l'énergie sous forme d'ATP (figure10).

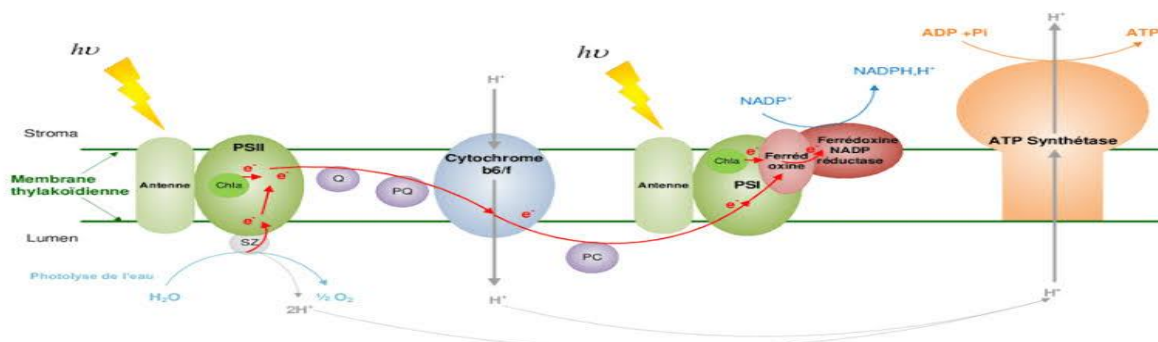


Figure 10 : Mécanisme de photosynthèse⁶⁵.

❖ Phase obscure

Elle correspond à l'assimilation du CO₂ en utilisant les molécules énergétiques (ATP et NADPH) produit dans la phase lumineuse. Ce cycle de réaction appelé cycle de Calvin-Benson se déroule à l'extérieure des thylacoides, au niveau du stroma.

Le cycle de Calvin (figure11) est initié par l'enzyme Rubisco (D-ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase) qui condense du CO₂ à une molécule à 5 carbones (ribulose-biphosphate), générant molécule à 6 carbones instable qui sera scindée en deux trois phosphate : le 3 phosphoglycérate. Une seconde phosphorylation par l'ATP produit le 1,3 biphospho glycérate, réduit à son tour par le NADPH en 3-phosphoglycéraldéhyde (sucre). Une série de réactions permet la régénération de l'accepteur CO₂ qui rentre dans un nouveau cycle.

Le gène chloroplastique rbcL est très utilisé comme marquer moléculaire dans l'indentification des différentes espèces de microalgues.

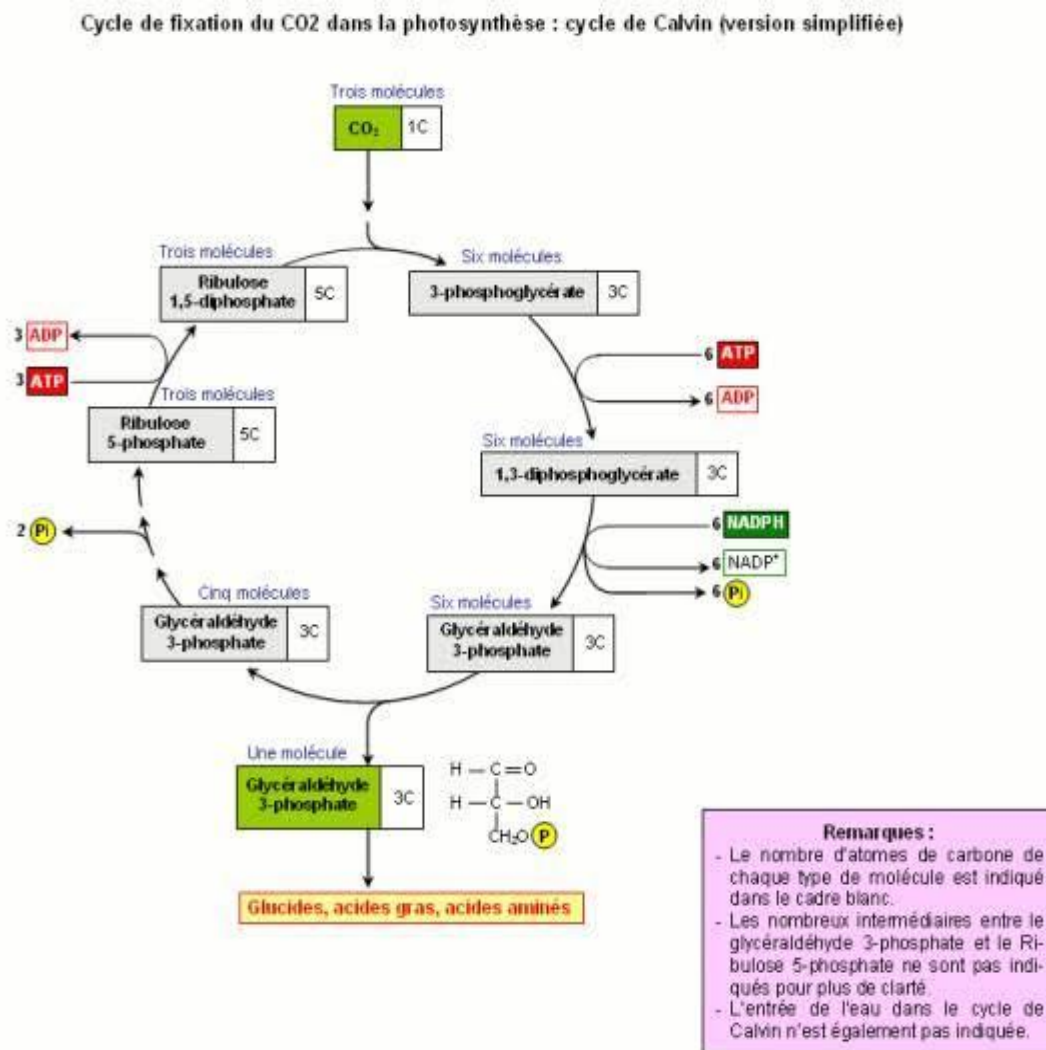



Figure 11: Les différentes étapes du cycle de Calvin ⁴¹.



Chapitre 03
L'application et
l'activité thérapeutique
de la spiruline

Chapitre 03 : L'application et l'activité thérapeutique de la spiruline.

1. Principales applications

1.1. En cosmétique

Certains laboratoires de soins cosmétiques ont introduit la spiruline dans des crèmes, des shampoings ou des sérums qu'ils commercialisent du fait du nombre non négligeable d'actifs naturels retrouvés dans cette cyanobactérie (acides aminés, oligoéléments, anti oxydants, minéraux, vitamines, acides nucléiques (composants de l'ADN), protéines, acides gras essentiels...) ⁷⁴. 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 ⁷⁴. 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 ⁷⁵.

1.2. En médecine

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

- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes);
- Le traitement de certaines affections dermatologiques.
- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies. Elle protège le cœur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales ⁷⁶.

Toutes ces applications thérapeutiques de la spiruline ont permis aujourd'hui sa vente et sa consommation comme complément alimentaire.

1.3. 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 ⁶⁹.

1.4. En alimentation humaine

Son application la plus connue et la plus ancienne reste l'alimentation humaine. De plus, grâce à son excellent profil nutritionnel, la spiruline peut générer plusieurs avantages. Elle est utilisée par exemple par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour lutter contre malnutrition sévère qui survient chez des enfants. 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 kwashiorkor ¹⁹. Sans oublier d'autres maladies telles que la malnutrition protéino-énergétique, l'anémie ferriprive et l'hypovitaminose.

Pour les sportifs, sa consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération. En effet, considérée 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 ⁷⁶.

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 ¹³.

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.

2. Activités thérapeutiques de la spiruline

Comme démontré précédemment *Spirulina platensis* de par sa composition riche et variée, n'a pas d'égal. Jusqu'à tout récemment, l'intérêt pour la spiruline portait uniquement sur sa valeur nutritive. Cependant, à l'heure actuelle, bon nombre de chercheurs étudient les effets thérapeutiques possibles de ce microorganisme. De nombreuses études précliniques et quelques études cliniques indiquent plusieurs effets bénéfiques : réduction du taux de cholestérol, effet anti-tumoral, amélioration du système immunitaire, augmentation des

lactobacilles intestinaux, réduction de la néphrotoxicité provoquée par les métaux lourds et les médicaments, la protection contre les rayons, etc.

2.1. 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 oxydatif⁷⁷.

2.1.1. Rappel sur le stress oxydatif

❖ Stress oxydatif

1. Définition : le stress oxydatif est un déséquilibre entre la quantité excessive de radicaux libres et antioxydants⁷⁸.

2. Radicaux libres : sont des molécules contenant du dioxygène et sont l'origine du processus naturel de l'oxydation des cellules. En trop grande quantité dans le corps, elles peuvent être nocive pour l'organisme et s'attaquer aux tissus graisseux, aux protéines à l'ADN et tous les composants de l'organisme. Lors d'un déséquilibre antioxydants/radicaux libres le système immunitaire du corps est affaibli et donc les mécanismes de défense du corps sont lésés⁷⁸.

3. Différents radicaux libres : On peut distinguer différents types de radicaux libres : le radical hydroxyle, le radical anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet, l'hypochlorite, le radical monoxyde d'azote et le radical peroxyde⁷⁹.

Principaux radicaux produits par le corps humain :

- Radicaux superoxydes (O_2) : ils sont produits lors de réactions métaboliques cellulaires, soit par l'action d'enzymes telles que les oxydases. Dans notre organisme, le radical superoxyde est le principal agent dans l'action bactéricide des phagocytes, mais il peut également être un médiateur nuisible de l'inflammation et contribuer à endommager les tissus normaux du corps.
- Radicaux hydroxyles ($OH\cdot$) : ils se forment lors de différentes réactions cellulaires impliquant l'hydrogène. Ce sont les radicaux libres les plus réactifs, étant parmi les principaux médiateurs impliqués dans l'endommagement des cellules.

- Monoxyde d'azote (NO) : c'est un radical très diffusible, liposoluble et dont la durée de vie court. Le NO favorise la défense immunitaire, ce qui fait de lui un radical libre très important dans l'organisme.

Les radicaux libres peuvent également être classés selon la typologie suivante :

- Radicaux libres primaires : ils sont formés par le transfert d'électrons à l'atome d'oxygène. Ils se caractérisent par une durée de vie moyenne très courte.
- Radicaux libres secondaires : ce sont ceux formés par transfert d'un radical primaire à un atome d'une molécule organique ou par la réaction de deux radicaux primaires entre eux. Ils se caractérisent par une durée de vie moyenne plus longue que celle des radicaux libres primaires.
- Intermédiaires stables des radicaux libres : ce sont des molécules stables qui ne sont pas des radicaux, mais à partir desquelles ceux-ci sont formés.

Ces deux classifications nous permettent d'avoir un aperçu de la multiplicité des et des propriétés physique des radicaux libres et des espèces réactives au sein de l'organisme⁷⁹.

4. Source des radicaux libres : Il existe plusieurs facteurs qui contribuent à la production de radicaux libres. Le mode de vie, le stress et l'environnement favorisent la formation excessive de radicaux libres, qui a pour conséquence la production de stress oxydatif.

Voici quelques exemples de ces facteurs : la pollution de l'air, la fumée de cigarette, la consommation d'alcool, un taux de sucre élevé dans le sang, une consommation élevée en acide gras polyinsaturés, les rayonnements, trop ou trop peu d'oxygène dans le corps, l'excès d'antioxydants ou un déficit en antioxydants⁷⁹.

5. Pathologies des radicaux libres : Le stress oxydant devient une situation pathologique dès que le système de protection est submergé par les ROS (reactive oxygen species) RONS(reactive oxygen species, N désigne espèces réactives oxygénées et azotées nitrogen en anglais).

Ceci peut être par exemple dû à :

- L'introduction dans la cellule de radicaux ou d'espèces réactives oxygénées (polluants photochimiques Situation pathologique pénétrant l'organisme via le système respiratoire, l'alimentation ou les muqueuses) ;

- Une surproduction de ROS et RONS induite par des processus de type ischémie-reperfusion qui sont à l'origine d'une partie des rejets des greffes ou à la présence de certains composés chimiques prooxydants tels que le méthylviologène ;
- Un défaut du système de protection, par exemple une mutation inactivant une des enzymes du système de protection ou une carence en une des vitamines ;
- L'introduction dans la cellule, ou dans un organe, de molécules hautement réactives, par exemple des nanoparticules (très petites et à surface spécifique très développée). Si ces nanoparticules sont nombreuses, les macrophages n'arrivent plus à les traiter et peuvent libérer leurs oxydants dans l'organisme en provoquant une réaction inflammatoire exacerbée.
- Une trop forte ou trop longue exposition solaire qui entraîne une photooxydation (oxydation par la lumière).

Le stress oxydant est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, mais il est aussi considéré comme une des principales causes de cancer et jouerait un rôle dans la maladie d'Alzheimer, comme dans plusieurs affections plus courantes telles que les maladies cardiovasculaires, les accidents cérébrovasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes. Les antioxydants bien dosés pourraient théoriquement diminuer ces dégâts mais cela reste à démontrer.

Par ailleurs, les macrophages produisent, à l'aide de l'enzyme chloroperoxydase, des ions hypochlorite ClO^- qui causent la mort des bactéries pathogènes en provoquant une situation de stress oxydant au sein de celles-ci.

La racine d'Astragale est utilisée pour les déficits neurologiques associés aux phénomènes oxydatifs du vieillissement.

Selon une étude, l'astragale protège les mitochondries en piégeant les espèces réactives de l'oxygène, en inhibant la perméabilité mitochondriale et en augmentant les activités des antioxydases⁴⁰.

Dans plusieurs maladies graves, notamment celles liées au vieillissement, le stress oxydant est le facteur déclenchant originel. C'est le cas des cancers, des pathologies oculaires (cataracte dégénérescence maculaire), des maladies neurodégénératives (ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer), le Parkinson, les maladies inflammatoires, le diabète... etc.

❖ *Les antioxydantes*

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants.

Pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydantes. Mais bien que le terme « antioxydante » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre de molécules et des domaines très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique⁸⁰.

1. Définition : D'après Futura Sciences, le portail d'information sur la science et les technologies, les antioxydantes sont des molécules qui en comprenant l'étymologie du mot empêchent et ralentissent l'oxydation. Une des fonctions des antioxydantes est de protéger les cellules, de détruire les radicaux libres et donc de réduire le stress oxydatif. Les principaux antioxydantes sont la vitamine E, la vitamine C, la vitamine A ; mais aussi certains minéraux comme les oligoéléments et les polyphénols. Rappelons également qu'une consommation supplémentaire en antioxydantes exige une alimentation saine et équilibrée car les antioxydantes ne peuvent pas agir seuls. En effet certains antioxydantes permettent la régénération d'autres antioxydantes. Par exemple, la vitamine E ne peut pas agir sans la vitamine C ou encore la glutathion peroxydase est régénéré par vitamine E et oligoéléments⁷⁸.

2. Classification des antioxydantes par rapport à leur mécanisme d'action

Indépendamment de leur localisation, les antioxydantes peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de radicaux libres oxygénés ou en épurant les radicaux libres oxygénés. En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est en outre capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire.

Groupe I

Plusieurs noms ont été attribués à ce groupe par exemple, antioxydantes primaires, chain breaking, piègeur des radicaux libres. Ce genre d'antioxydantes peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydantes primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire. Les antioxydantes de ce groupe réagissent de façon prédominante avec les radicaux peroxylés, pour deux raisons : la concentration élevée de ces radicaux et la faible énergie du groupement (ROO·), en comparaison avec les autres radicaux comme le (RO·) et la faible concentration du piègeur du

radical libre dans l'aliment. Un piègeur du radical libre, même à des concentrations faibles, entre en compétition avec les lipides pour rendre le radical libre inactif par l'intermédiaire d'une réaction de libération d'un électron, suivie d'une déprotonation ⁸¹.

• Groupe II

Les composés de ce groupe sont catalogués comme préventifs ou antioxydantes secondaires. Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydantes secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Le groupe II inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructeurs des hydroperoxydes. (Figure12).

Parfois, quelques antioxydantes peuvent exercer plusieurs fonctions anti-oxydatives, par exemple, l'acide ascorbique peut être un piègeur du radical libre, désactivateur des oxygènes singulets dans une solution aqueuse et effectivement régénérer du tocophérol. Plusieurs flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres et chélateurs de métaux ⁸².

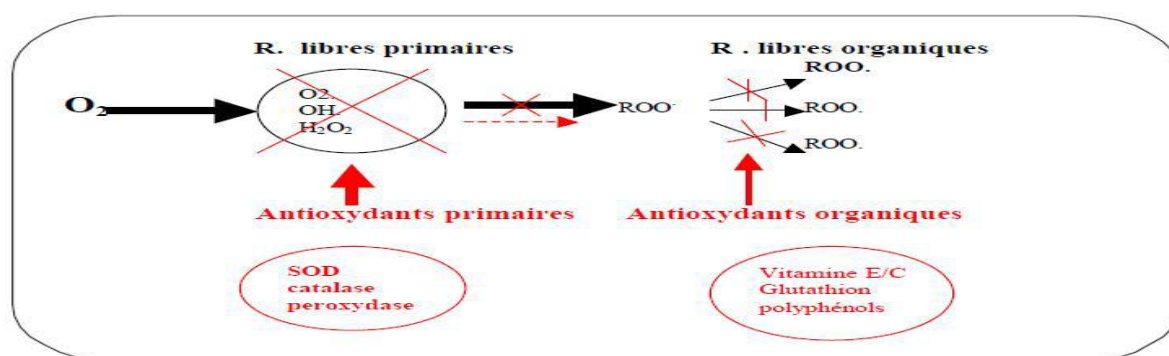


Figure 12 : Les systèmes de défense contre les radicaux libres.

3. Classification des antioxydantes suivant la nature chimique

Plusieurs antioxydantes synthétiques et quelques composés naturels (tocophérol, acide ascorbique, Béta- carotène) sont officiellement autorisés pour l'utilisation dans l'alimentation.

Leur présence s'avère également nécessaire au sein des produits pharmaceutiques et de cosmétiques afin d'éviter leur dégradation.

Cependant, des études toxicologiques ont jugé certains antioxydantes synthétiques comme sources de danger ⁸³. La recherche de nouveaux antioxydantes naturels est l'objectif de nombreux industriels et scientifiques. Dans la littérature, des milliers de publications ayant

pour sujet les antioxydantes naturels ainsi que leur effet sur l'organisme humain peuvent être consultées ⁸⁴.

1. Antioxydantes naturels

L'organisme possède des systèmes de défense très efficaces, de deux types : les antioxydantes enzymatiques et les antioxydantes non enzymatiques. Ces antioxydantes sont d'autant plus importants que certains peuvent être utilisés en thérapeutique pour tenter de prévenir le stress oxydatif.

1.1. Antioxydantes enzymatiques

Les antioxydantes enzymatiques (La superoxyde dismutase, la catalase, la glutathion peroxydase et la glutathion reductase) sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ROS. (Figure 13).

a) Superoxydes dismutases (SOD)

La famille des superoxydes dismutases comporte trois isoformes (SOD1, SOD2, SOD3) dont le rôle est la dismutation de deux anions superoxyde en espèces oxygénées moins réactives que sont H₂O₂ et O₂ ⁸⁵.

L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc.



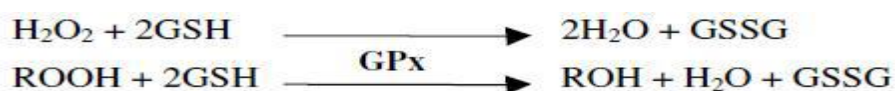
b) Catalases

Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ en libérant de l'oxygène et de l'eau. Elles sont localisées surtout dans les peroxysomes. Elles n'éliminent pas la totalité du peroxyde d'hydrogène, mais leur rôle est très important surtout en présence d'ions ferreux ⁷³.



c) Glutathions peroxydases et réductases (GSHPX)

Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG) ⁸⁶ :



La glutathion réductase (GR), quant à elle, a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG.

Au cours de cette réaction, la glutathion réductase utilise un cofacteur, le NADPH :



Cette réaction produit du NADP⁺ qui sera régénéré en NADPH pour une utilisation ultérieure, par une autre enzyme, le G6PD (glucose-6-phosphate-déshydrogénase) :

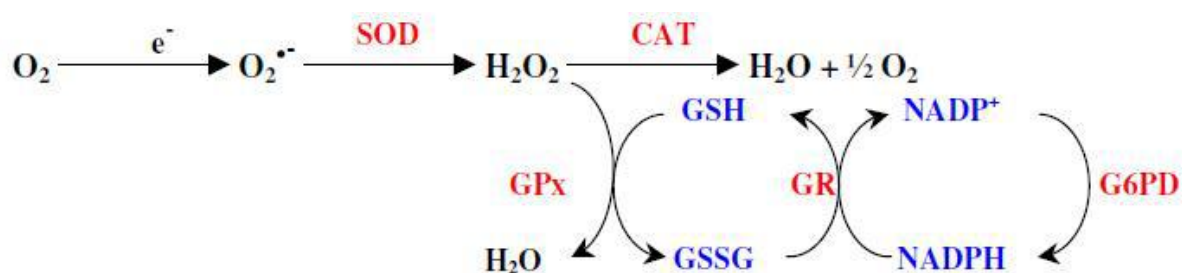


Figure 13 : Principales étapes de la défense enzymatique contre les espèces réactives de l'oxygène.

1.2. Antioxydantes non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydantes, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydante nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols.

a) La vitamine E

La vitamine E désigne un groupe de nombreux composants présents dans la nature : les α -, β -, γ - et δ -tocophérols et tocotriénols. Elle intervient directement au niveau des membranes biologiques où elle piège les radicaux libres avant qu'ils n'atteignent leurs cibles⁸⁷.

La vitamine E étant liposoluble, elle se fixe aux membranes et peut ainsi séquestrer les radicaux libres empêchant la propagation des réactions de peroxydation lipidique⁸⁸. (Figure14).

d) Glutathion

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des GSHPX. Il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vitamine C ou la vitamine E.⁹¹

e) Oligoéléments

Le cuivre, le zinc, le manganèse, le sélénium et le fer sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium.

f) Composés phénoliques issus des végétaux

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année un intérêt croissant de la part des nutritionnelles, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs. Une des raisons principales est la reconnaissance de leurs propriétés antioxydantes et ainsi leur implication probable dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardiovasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins⁹².

2. Antioxydantes synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydantes synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydantes naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydantes de la nourriture. Cependant, il a été montré que ces antioxydantes de synthèse pouvaient être toxiques. En effet, le BHA convertirait certains produits ingérés en substances toxiques ou carcinogènes en augmentant la sécrétion des enzymes microsomaux du foie et des organes extra-hépatiques.

Le BHT présenterait des effets carcinogènes chez le rat.

2.2. 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 ⁹⁴. 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. 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 ⁹⁴.

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 établies 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 ⁸³. 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 ⁹⁵. 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 ⁹⁶.

2.4. Activité anticancéreuse

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que la bêta-carotène, un des antioxydantes 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 ¹³.

2.5. Activité anti-hypercholestérolémiant

Il existe une corrélation statistique entre l'excès de cholestérol et l'infarctus, la thrombose, l'artérite et les maladies cardio-vasculaires qui sont la première cause de mortalité

en occident. Les causes sont multiples mais se conjuguent, comme, une alimentation trop riche, alimentation trop sucrée, trop salée, le stress, l'alcool, le tabac, le manque d'exercice physique, ... Aux alentours de la quarantaine, le cholestérol en excès dans le sang se dépose sur les parois interne des artères : c'est l'athérosclérose. Dans un second temps, les vaisseaux se durcissent, c'est ce qu'on appelle l'artériosclérose. Ce qui va entraîner une diminution du diamètre des artères qui, parfois, se bouchent totalement. Un coronaire qui se bouche donne l'infarctus ⁹⁷.

Avec son fort taux d'acide gamma-linolénique (AGL), la spiruline est naturellement capable de faire baisser le taux de cholestérol sanguin de façon significative. Pour rappel, l'AGL est classé comme un acide gras essentiel, c'est à-dire que le corps en a besoin mais ne peut pas en synthétiser, et doit donc être apporté par l'alimentation. L'AGL facilite la production d'une très importante substance appelée prostaglandine E1 (PGE1). Celle-ci aide à prévenir les crises cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux, elle aide également à éliminer l'excès de liquide, à améliorer la circulation sanguine, à ralentir la production du cholestérol ⁹⁸.

2.6. Autres effets

D'innombrables autres effets bénéfiques sont également rapportés pour la spiruline. D'après Takaï et al. (1991), la fraction soluble dans l'eau de la spiruline a la propriété de diminuer le taux de glucose dans le sérum. Par ailleurs, Becker et al. ont montré en 1986 qu'une supplémentation en spiruline de 2,8 g 3 fois par jour pendant 4 semaines entraînait une réduction du poids corporel chez les obèses. De plus, Iwata et al. (1990) ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats, suite à un apport de spiruline. Et enfin, Cheng-Wu Z et al., ont observé que la phycocyanine et les polysaccharides de la spiruline possédaient une activité érythropoïétique ⁹⁹.

3. Risques de toxicité liés à la production

Les potentiels risques de toxicité de la spiruline liés à son mode de culture sont essentiellement de trois ordres :

1. Contamination par des métaux lourds ou éléments traces métalliques.
2. Contamination par des cyanobactéries et leurs toxines.
3. Contamination par des bactéries pathogènes.



Partie pratique



Chapitre 01

Matériel et méthode

Chapitre 01 : Matériel et méthode.

1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est l'algue bleu-vert *Spirulina platensis*. La spiruline nous a été fournie par Mr. HIRI qui produit cette microalgue dans des bassins de culture à Tamanrasset (Figure 17). Elle a été cultivée dans un milieu de culture enrichi par les éléments minéraux nécessaire à la croissance ; récoltée, triée et séchée à l'air libre, à l'ombre et à température ambiante en avril 2021.

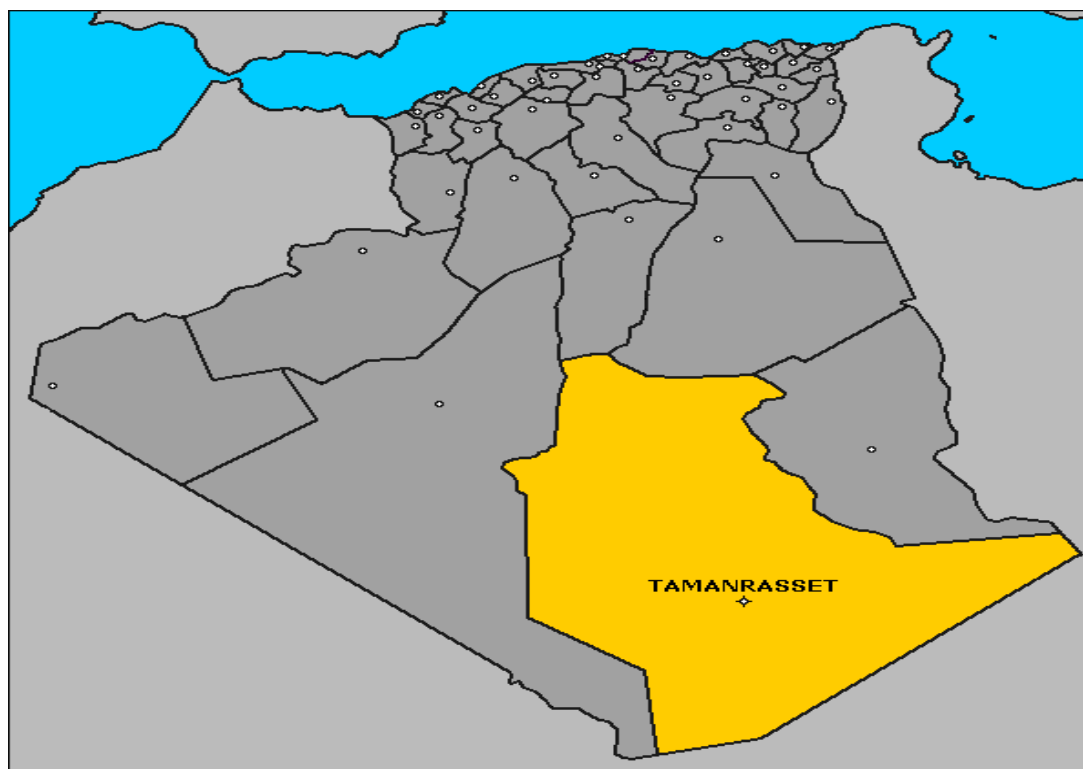


Figure 17: Situation géographique de la station de prélèvements des échantillons de la spiruline « *Spirulina platensis* ».

2. Matériel expérimental

Il s'agit de tout matériel, autre que biologique englobant la verrerie, l'appareillage et les réactifs chimiques et organiques utilisés dans l'étude expérimentale. Le matériel expérimental utilisé sera présenté en Annexe I.

1. Méthodes d'extraction de la phycocyanine

❖ Extraction par l'eau

Parmi Les méthodes les plus précises pour mesurer la teneur en pigments, il ya la colorimétrie.

❖ Mode opératoire

Une suspension de 4 % de spiruline dans l'eau a été préparée à l'obscurité. Nous l'avons décanté, puis nous avons prélevé la solution bleue et procédé à une centrifugation (3900 tours/45 min) à 4°C. Nous avons prélevé le surnageant et nous avons dilué d'un facteur de 100 environ avec de l'eau²⁰.

❖ Expression des résultats

Nous mesurons la densité optique à 615 nm, 652 nm, 620 nm et 280 nm. Soit DIL ce facteur de dilution en volume. Le calcul du % en phycocyanine est réalisé selon la formule suivante :

$$1.873 \times (DO_{620} - 0.474 \times DO_{652}) = DIL/C$$

C : % de la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau (autour de 4%)

La pureté de phycocyanine est égale à DO_{620}/DO_{280}^{100} .

2. caractérisations de phycocyanine**1. Dosage de polyphénols totaux****❖ Par colorimétrie****❖ Principe**

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, par la présence d'au moins deux groupes phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, généralement de haut poids moléculaires. Ces composés sont les produits des métabolismes secondaires des plantes.

❖ Mode opératoire

Nous diluons l'extrait de la phycocyanine de souche à différentes concentrations (0.01-0.07 mg/ml), puis nous mettons 0,5 ml de chaque dilution dans des tubes à essai pour chacune d'elles.

Nous ajoutons 5ml d'eau distillée et 0.5 de réactif de Folin à 10%. Après 3 mn nous ajoutons 0.5ml de carbonate de sodium 20%¹⁰¹.

❖ Expression des résultats :

La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation et repos d'une heure à l'obscurité.

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage¹⁰². (Voir annexe II).

2. Dosage de flavonoïde :

❖ Principe :

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont des métabolites secondaires des plantes partageant tous une même structure de base formée par deux cycles aromatiques reliés par trois carbones : C6-C3-C6, chaîne souvent fermée en un hétérocycle oxygéné hexa- ou pentagonal. Certains auteurs, préfèrent les séparer, pour tenir compte de leurs propriétés particulières, les dérivés flavoniques, les xanthocyanopsies et les iso flavonoïdes et conserver l'appellation de flavonoïdes *stricto sensu* pour les autres¹¹⁰.

❖ Mode opératoire

A 1 ml d'extrait de phycoyanine différents concentrations (0.01-0.07 mg/ml) nous ajoutons

1 ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 %.

❖ Expression des résultats

La concentration des flavonoïdes contenus dans les extraits est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la Quercétine (voir annexe III) comme standard.

Après 10 mn, l'absorbance est lue à 430 nm.

3. Activité antioxydante

❖ Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le DPPH· (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH· est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH·, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Figure 18)¹⁰³.

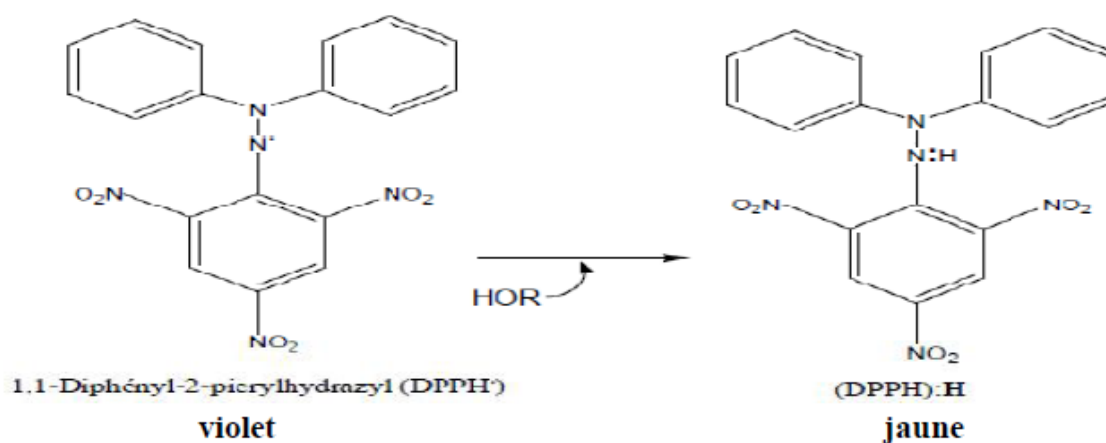


Figure 18: Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydante) avec le radical DPPH.

❖ Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydantes à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par ¹⁰⁴.

Un volume de 0.7 ml de différentes concentrations (2 à 20mg/ml) est ajouté à 0.7 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,04 mg/ml) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 0.7 ml du méthanol avec 0.7 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

On en utilisant l'acide ascorbique comme standard (voir annexe IV).

❖ Expression des résultats**✓ Calcul des pourcentages d'inhibitions**

Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

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

Ac : absorbance du contrôle ;

At : absorbance du test effectué.

✓ Calcul des IC₅₀

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

4. Activité antimicrobienne

Nous avons étudié le pouvoir antibactérien des extraits précédents sur les espèces suivantes :

- *Escherichia coli* T. Escherich ATCC 25922.
- *Pseudomonas aerogenosa* Migula ATCC 27853.
- *Staphylococcus aureus* Rosenbach ATCC 25923.

1. *Escherichia coli*

Appartiennent à la famille *Enterobacteriaceae*, C'est un bacille à Gram négatif avec des dimensions de 1 à 3 μm . On le trouve généralement dans les intestins des mammifères, y compris les humains, la plupart d'entre eux ne sont pas pathogènes et jouent un rôle important dans l'intestin. Il peut également provoquer des infections intestinales, des infections génitales ou urinaires, ainsi que des diarrhées aiguës.

Il se multiplie très rapidement à une température corporelle de 37 °C et forme des chaînes et se déplace par flagelles (figure 19).

Des études ont montré qu'*Escherichia coli* peut pénétrer les cellules endothéliales qui composent la barrière hémato-encéphalique chez les nouveau-nés à travers les petits vaisseaux sanguins, provoquant une méningite.



Figure 19: *Escherichia coli*.

2. *Pseudomonas aeruginosa*

Appartiennent à la famille *Enterobacteriaceae*, C'est un type de bactérie Gram négatif, se déplaçant avec des cils et parfois avec des volets d'air, qui se distinguent par leur résistance aux antibiotiques et aux désinfectants. Elles provoquent une inflammation des voies urinaires, des plaies et du système digestif, et elles vivent dans le sol et conditions humides, et nous pouvons en trouver certains dans le système digestif des animaux et des humains (Figure 20).

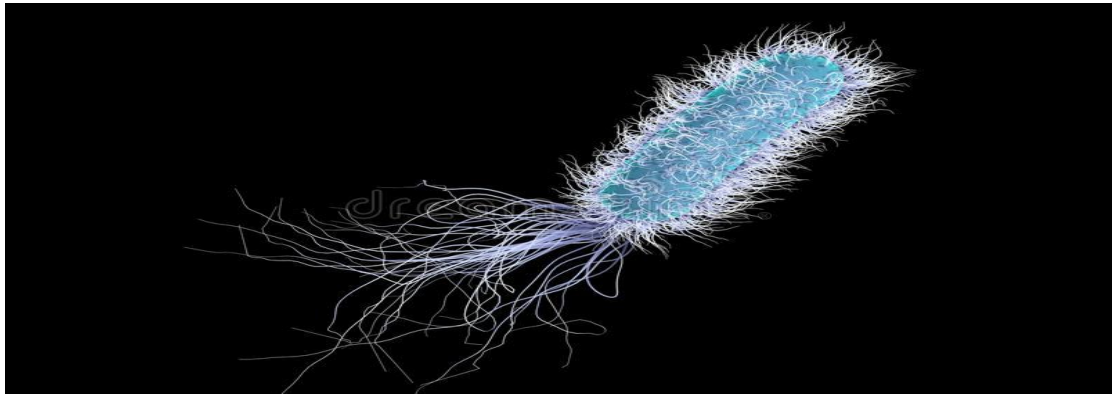


Figure 20: Pseudomonas aeruginosa.

3. *Staphylococcus aureus*

Appartiennent à la famille Staphylococcaceae, Il s'agit d'un type de bactéries Gram-positives appartenant au genre Staphylococcus, elles sont associées en grappes sous forme d'amas d'environ 1 μm diamètre, non aérobies et anaérobies.

C'est l'une des bactéries à l'origine de nombreuses maladies chez l'homme, car elle peut provoquer une dermatite et une otite moyenne, car elle conduit à une intoxication du sang, et elle est également responsable d'infections dans les hôpitaux et d'intoxications alimentaires (Figure 21).

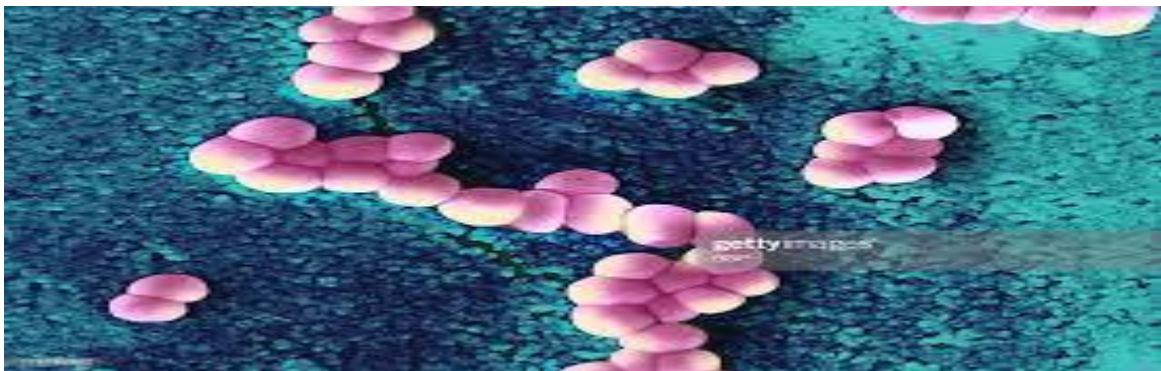


Figure 21: Staphylococcus aureus.

❖ Antibiotiques pour la comparaison positive

En testant l'activité de l'extrait de spiruline sur les trois espèces bactériennes, deux antibiotiques ont été utilisés afin de comparer l'activité biologique de l'extrait avec ces deux :

1- Amoxyclav AMC30: 30 µg /disc.

2-Penicilling PN10 :10 units/disc.



Figure 22: Antibiotiques pour la comparaison positive Amoxyclav AMC30: 30 µg /disc.

penicilling PN10 :10 units/disc.

❖ Mode opératoire

L'activité antimicrobienne des extraits de *Spirulina platensis* par la méthode de diffusion sur disque a été réalisée selon le protocole proposé par BAUER *et al.* (1966)¹⁰⁵. Elle est comme suit (Figure 23) :

- Préparer des boîtes de Pétri contenant 20 ml de milieu Müller Hinton ;
- Préparer des différentes concentrations de l'extrait (0.5-50 mg/ml) ;
- Ensemencer l'inoculum (turbidité ajustée à 0.5 McFarland) en surface par coton tige et laisser sécher les boites pendant cinq minutes ;
- Imprégner des disques stériles de 7 mm par 20 µl de chaque extrait préalablement, solubilisé avec le DMSO 10% avec déférent concentration (0.5-50mg/ml) ;
- Déposer les disques à la surface du milieu de culture à l'aide d'une pince stérile et presser doucement pour assurer leur contact avec la surface de milieu ;
- Déposer les disques d'antibiotique et de DMSO (témoin) à la surface du milieu de culture à l'aide d'une pince stérile et presser doucement pour assurer leur contact avec la surface de milieu ;
- Incuber à 37°C pendant 24heures.



Figure 23: Principe de l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disques.



Chapitre 02
Résultats
et discussions

Chapitre 02: Résultats et discussions.**I. Résultats****1. Extraction de phycocyanine**

Les concentrations de phycocyanine obtenues pour la souche étudiée, selon la méthode d'extraction est 0.116mg/ml.

Le degré de pureté c'est 3.818.

Une pureté de C-phycocyanine de 0.7 est considérée comme grade alimentaire, 3.5 comme grade réactive, par contre si elle est supérieure 4, elle est considérée comme grade analytique. Ces valeurs indicatives permettent d'affirmer que cette extraction est de l'ordre réactif. Un effet significatif de production sur le degré de pureté est observé, et ce quelque soit la méthode d'extraction utilisée.

❖ Rendement des extraits obtenus

Dans 4g de spiruline sèche contient 1.752 mg de phycocyanine avec un rendement totale de 43.8%.



Figure 24: Extraction De Phycocyanine diluer et concentrat (source : laboratoire de Biochimie).

2. Caractérisations de la phycocyanine**1. Polyphénols totaux**

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique. (Figure 25)

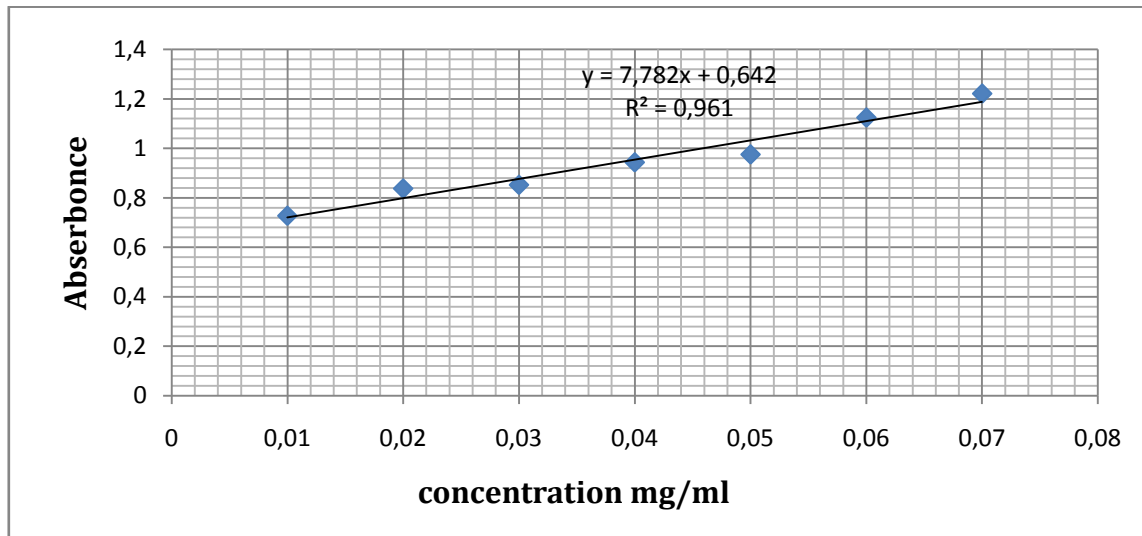


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

Pour les différents concentrations de l'échantillon étudiée *Spirulina platensis* nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux (figure 26). La teneur la plus élevée est constatée dans la grande concentration utilisée, elle est de l'ordre de 6.360 ± 0.433 mg GAE/g suivi par le moins concentré et le moins puis le dernier avec une teneur de 1.520 ± 0.899 mg EAG/g de matière sèche.

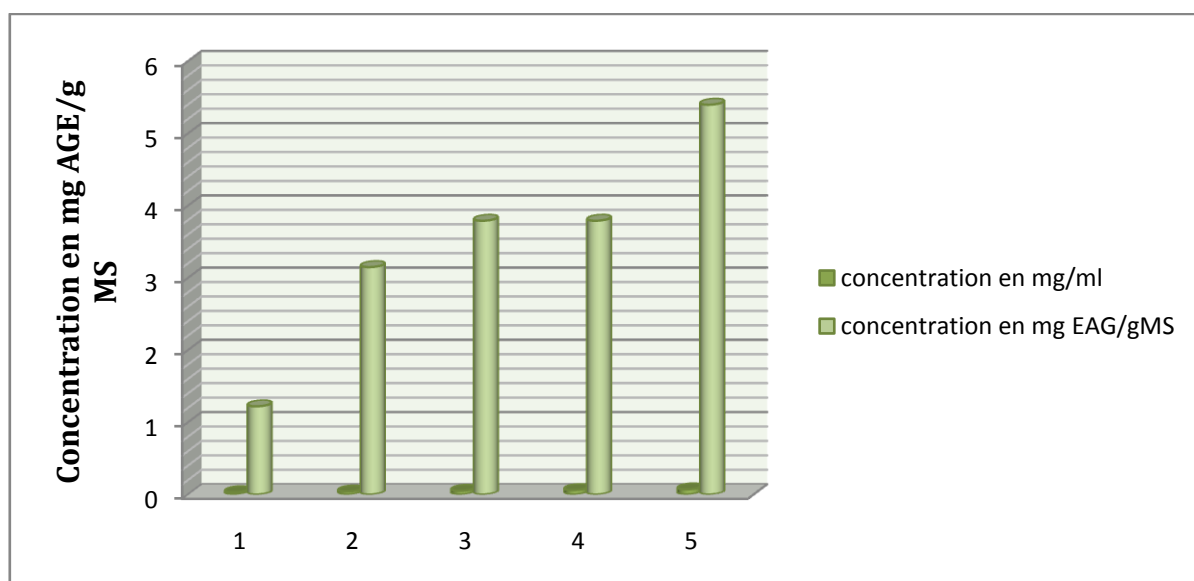


Figure 26 : Teneurs en phénols totaux pour les concentrations étudiées.

2. Les Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique.

Le Quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différentes parties de la plante qui est exprimé en mg équivalent de Quercétine (EQ) par gramme de matière sèche. (Figure 27).

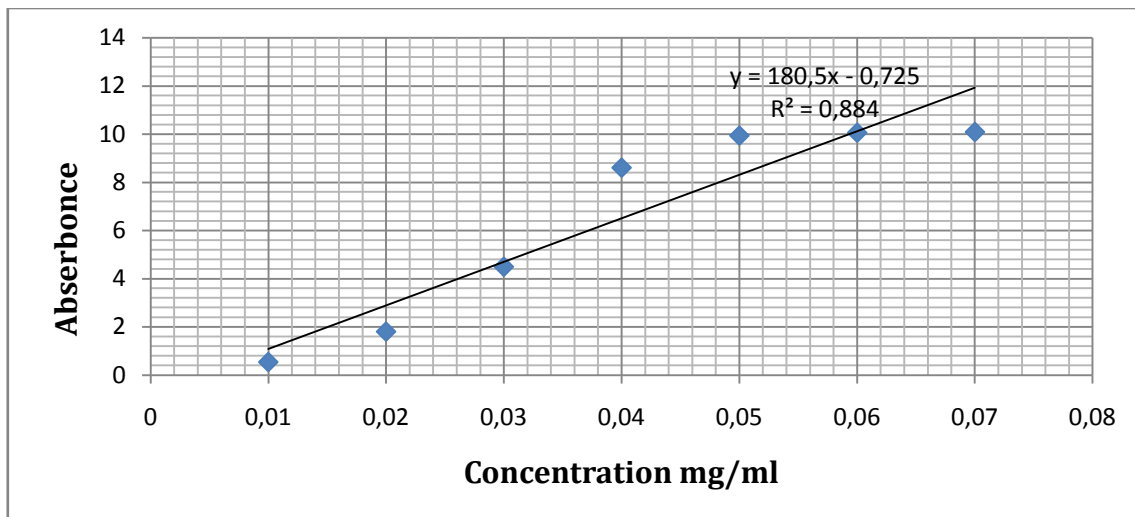


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

D'après l'histogramme illustré dans la figure 30, nous avons observé des teneurs rapprochées en flavonoïdes dans les concentrations étudiées, elles représentent une valeur de 1.167 ± 1.310 mg EQ/g de matière sèche.

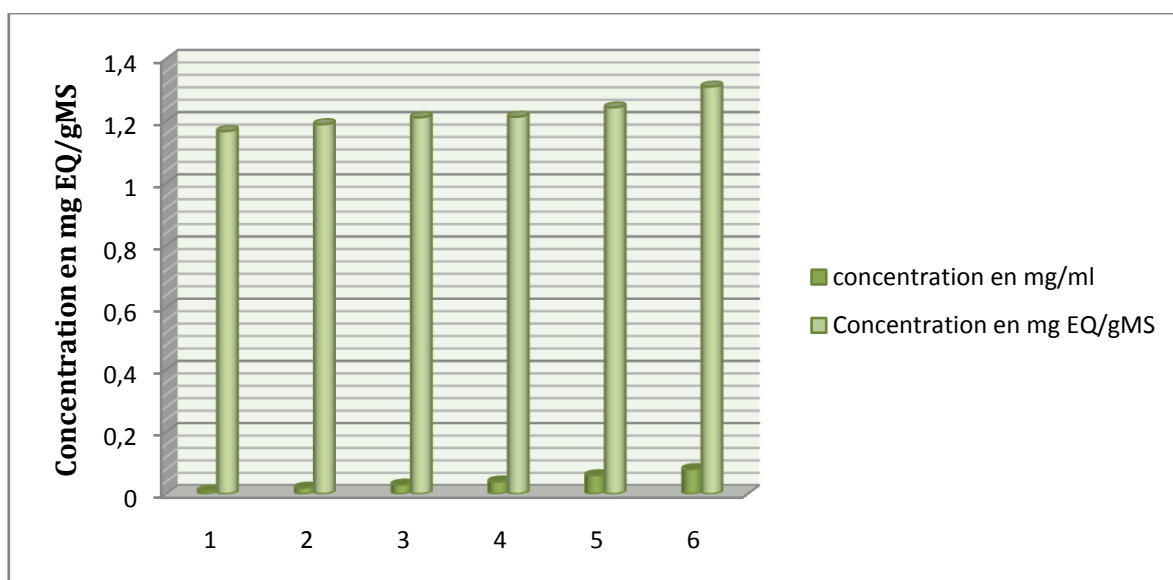


Figure 28 : Teneurs en flavonoïdes pour les concentrations étudiées.

3. L'activité anti oxydante

Les résultats de l'activité anti oxydante sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Valeurs (en %) d'activité anti oxydante pour la spiruline.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
pourcentages d'inhibitions(%)	9.01	14.78	20.32	26.33	33.03	38.11	43.87	49.19	54.96	60.96

L'extrait brut de spiruline a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus important.

Nous avons obtenu une activité antioxydante variant de 9.01 à 60.96 % selon que la concentration de spiruline varie de 2 à 20 mg/ml.

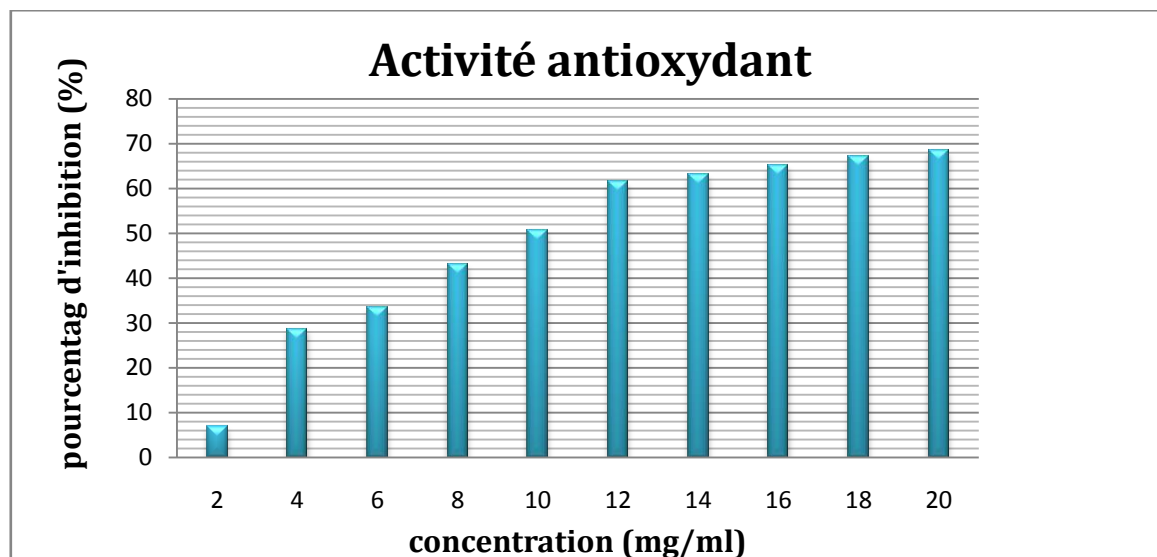


Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'extrait de la spiruline (phycocyanine).

Et pour le standard en utilise l'acide ascorbique, les résultats de l'activité anti oxydante sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 11: Valeurs (en %) d'activité anti oxydante pour l'acide ascorbique.

Concentration (mg/ml)	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
pourcentages d'inhibitions(%)	6.92	28.65	33.46	43.07	50.76	61.53	63.07	65.19	67.11	68.46

L'acide ascorbique a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH plus important. Nous avons obtenu une activité antioxydante variant de 6.92 à 68.46 % selon que la concentration de spiruline varie de 2 à 20 mg/ml.

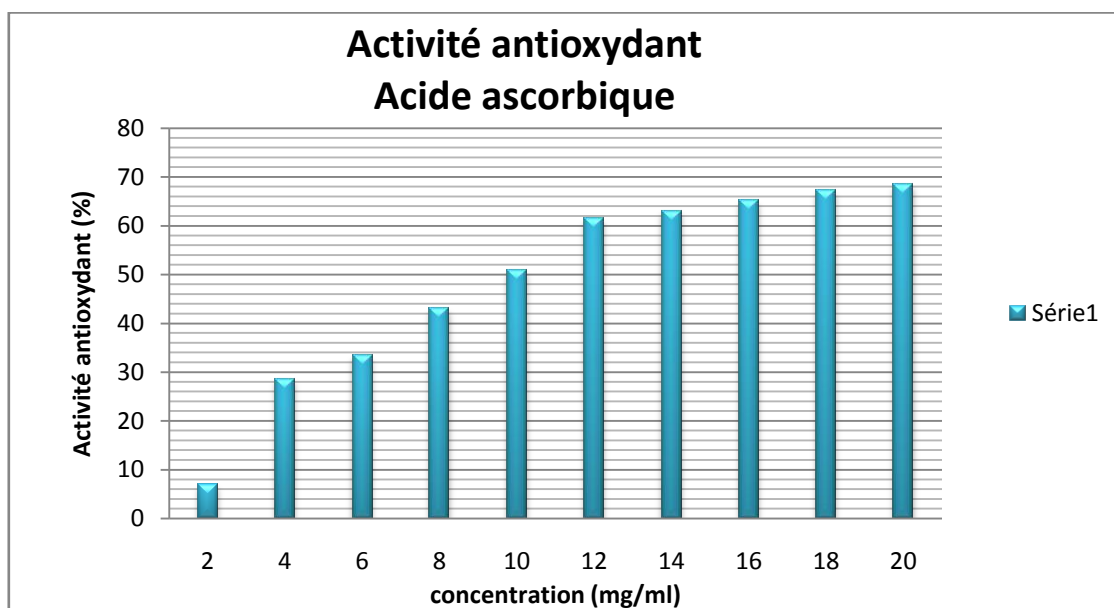


Figure 30 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.

❖ Calcul des IC50 :

La capacité antioxydante d'extraits a été déterminée à partir des IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande¹⁰⁶.

Les valeurs des IC50 trouvées pour tous les extraits testés sont représentées dans le tableau 12 et dans la figure 30 sous forme d'histogramme.

Tableau 12 : valeurs des IC50 trouvées pour l'extrait de spiruline et d'acide ascorbique.

	IC50 exprimées en mg/ml
l'extrait de spiruline	16,2848233
d'acide ascorbique	9,8023921

En comparant les IC50 de l'extrait de spiruline et l'acide ascorbique nous avons remarqué l'IC50 de l'acide ascorbique est petite que l'extrait, donc l'activité antioxydante

élevée de la fraction d'acide ascorbique qui est supérieur à la capacité du piégeage du radical DPPH de l'extrait.

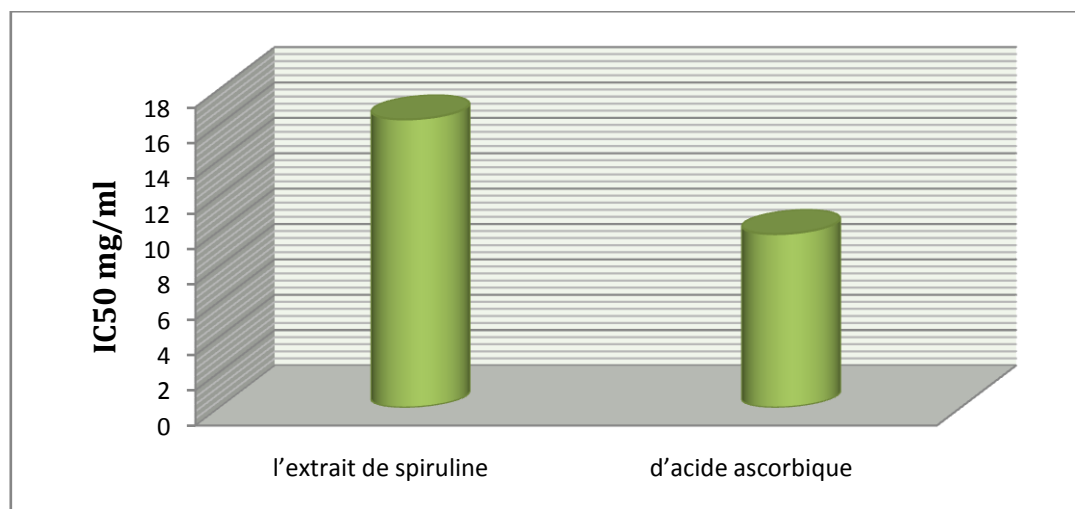


Figure 31 : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 d'échantillon et de standard en mg/ml.

4. Activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne des extraits sélectifs et bruts a été faite avec la concentration Mère avec turbidité ajustée à 0.5 McFarland.

Les résultats obtenus et illustrés par la figure 32 ; 33, montrent que les dix concentrations n'ont présenté aucun effet d'inhibition vis-à-vis les deux souches bactéries pathogènes *Escherichia coli* et *Pseudomonas aerogenosa*.

En effet, nous enregistrons un halot autour des disques d'antibiotiques de 36 mm comme un zone d'inhibition Amoxyclav AMC30: 30 µg /disc, et de 3mm pour l'antibiotique Penicilling PN10 :10 units/disc.

Tableau 13: Les différentes concentrations utilisées.

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Concentration (mg/ml)	0.5	1	5	10	15	20	25	30	40	50

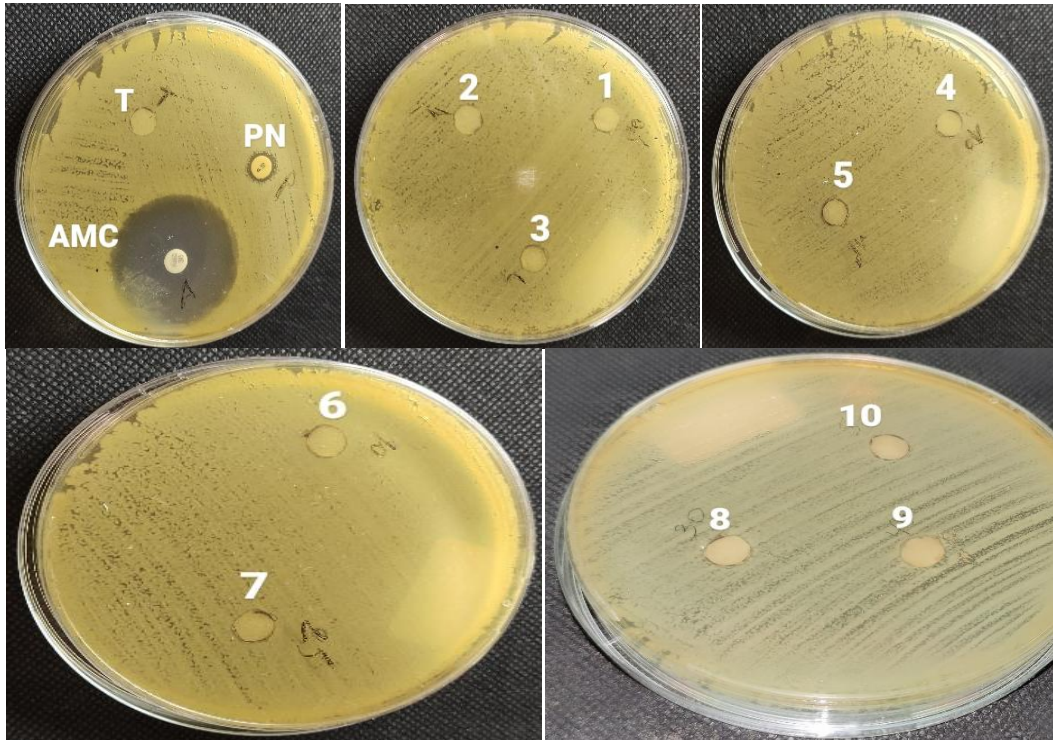


Figure 32: Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche d'*Escherichia coli*.

(T) Témoins (DMSO), (PN) Penicilling PN10 :10 units/disc, (AMC) Amoxyclav AMC30: 30µg /disc, (1) C1, (2) C2, (3) C3, (4) C4, (5) C5, (6) C6, (7) C7, (8) C8, (9) C9, (10) C10.

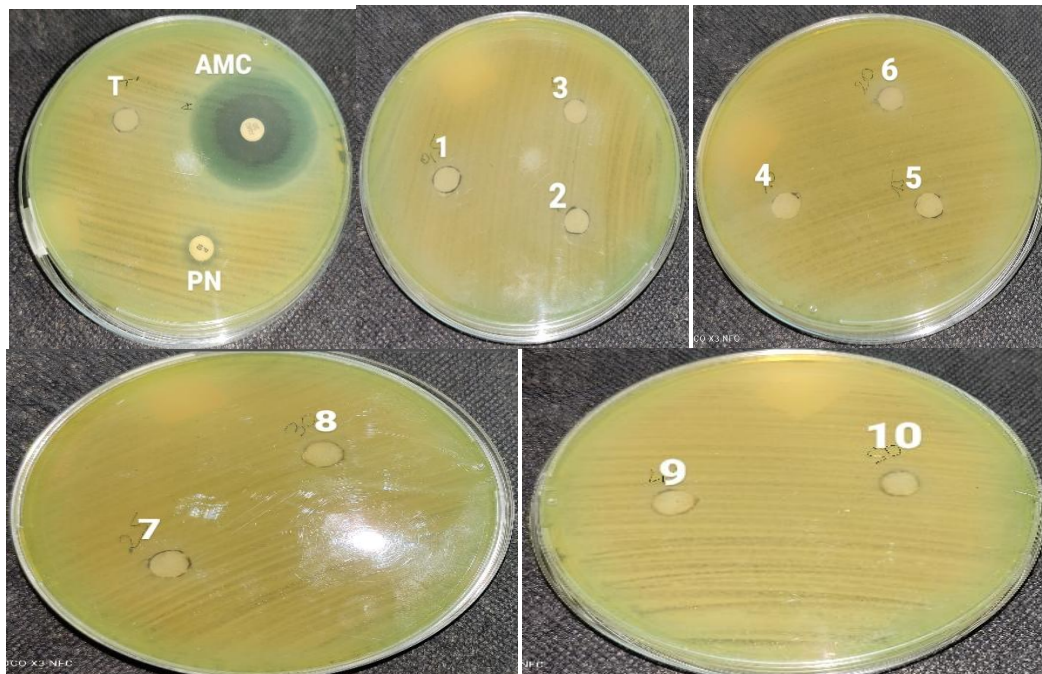


Figure 33 : Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche de *Pseudomonas aerogenosa*.

(T) Témoins (DMSO), (PN) Penicilling PN10 :10 units/disc, (AMC) Amoxyclav AMC30: 30µg /disc, (1) C₁, (2) C₂, (3) C₃, (4) C₄, (5) C₅, (6) C₆, (7) C₇, (8) C₈, (9) C₉, (10) C₁₀.

Les résultats obtenus et illustrés par la figure 34, montrent que les dix concentrations ont présenté un effet d'inhibition vis-à-vis la souche bactérie pathogène *Staphylococcus aureus*.

Le tableau suivant articulé les zones d'inhibition de dix concentrations d'extrait avec *Staphylococcus aureus*.

Tableau 14: Zone d'inhibition de dix concentrations d'extrait.

Concentration	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10
Zone d'inhibition	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1	1.1	1.3	1.4

Nous enregistrons un halot autour des disques d'antibiotiques de 32 mm comme un zone d'inhibition Amoxyclav AMC30: 30 µg /disc, de 54 mm pour l'antibiotique Penicilling PN10 :10 units/disc et 0 mm pour le témoin (DMSO).

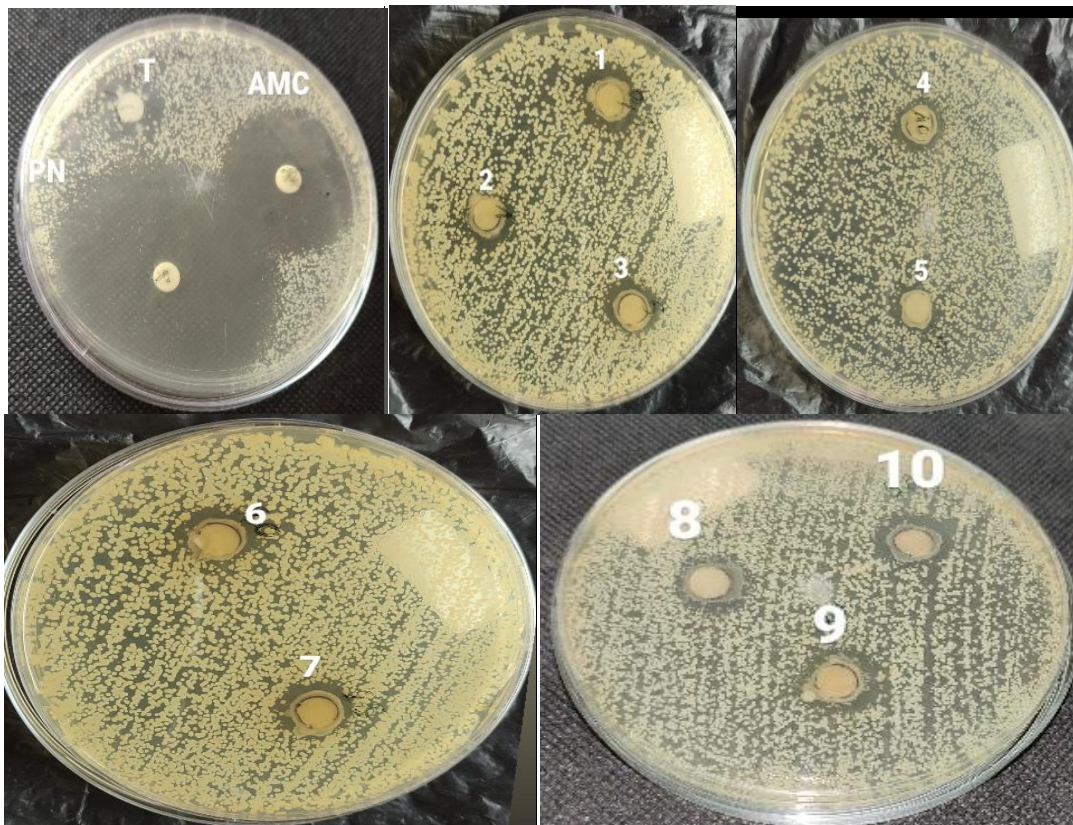


Figure 34 : Activité antimicrobienne d'extraits avec la souche de *Staphylococcus aureus*. (T) Témoins (DMSO), (PN) Penicilling PN10 :10 units/disc, (AMC) Amoxyclav AMC30: 30µg /disc, (1) C₁, (2) C₂, (3) C₃, (4) C₄, (5) C₅, (6) C₆, (7) C₇, (8) C₈, (9) C₉, (10) C₁₀.

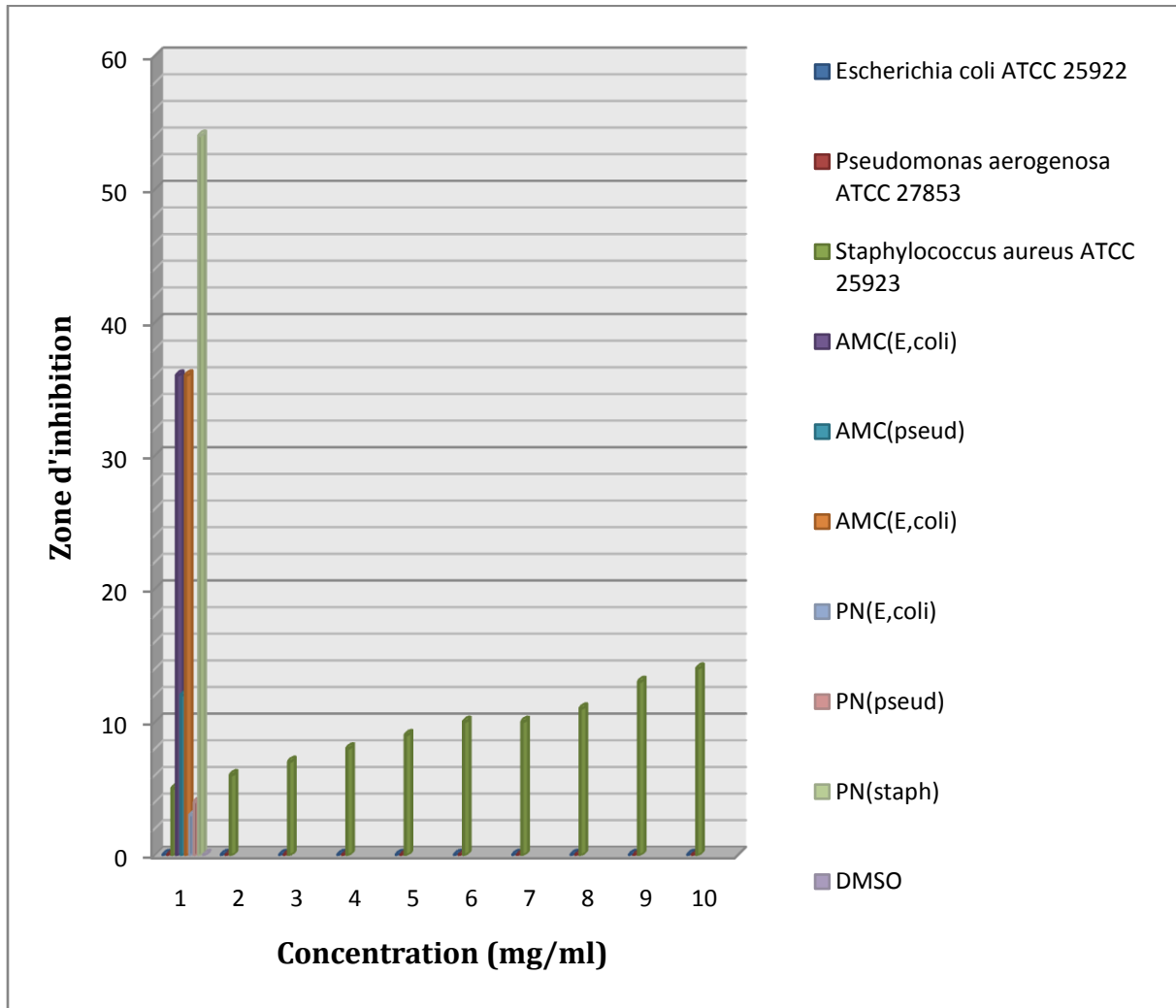


Figure 35 : Histogramme des valeurs diamètres d'inhibition des trois souches bactérienne testée.

II. Discussion générale

La spiruline est un aliment à hautes qualités nutritives grâce à la diversité et la richesse de ses constituants. Selon **PIERLOVISI (2008)¹⁰⁷**, elle semble présenter plusieurs activités biologiques, mais ces données doivent être considérées avec certaines réserves puisqu'il s'agit souvent d'études réalisées sur des molécules isolées extraites de souches de spiruline et que la plupart ne sont que des tests *in vitro*.

La présence des principaux métabolites secondaires chez la spiruline suggère d'une activité photosynthétique et énergétique comparable à celle des plantes. En effet, le criblage réalisé a permis de constater les caractéristiques d'extrait de spiruline (la phycocyanine dans ce cas).

D'après les analyses que nous avons effectués il ressort que :

La méthode d'extraction de phycocyanine a un effet sur sa concentration et sa pureté d'où il est indispensable de bien choisir la méthode pour augmenter le rendement.

L'extraction par l'eau c'est la mieux méthode pour extraire cette métabolite a été rapportée par plusieurs auteurs notamment **BOUTALBI (2014)¹⁰⁸**, **LOÏC et al. (2008)¹⁰⁹**, **FALQUET et HURNI (2006)⁴¹** et par **JOURDAN (2006)²⁰**.

La présence des flavonoïdes dans l'extrait aqueux de *Spirulina platensis*, a été également rapportée par plusieurs auteurs notamment, **BOUTALBI (2014)¹⁰⁸**, **LOÏC et al. (2008)¹⁰⁹**, **FALQUET et HURNI (2006)⁴¹** et par **JOURDAN (2006)²⁰**.

La spiruline est riche en polyphénols totaux. Par ailleurs, **LAFRI et al¹¹⁰** confirmait en **2017** ce résultat.

Ce taux de polyphénol dans cet extrait une activité antioxydante très élevée.

Les travaux de **LAFRI et al 2017¹¹⁰** relèvent une activité antioxydante plus apportant faire la demande sur cette produit comme nutriment le plus complet que l'on puisse trouver dans la nature, que ce soit dans les produits végétaux ou les sources animales.

Concernant l'activité biologique, nous avons étudié l'extrait avec une déférente concentration sur la croissance de trois souches bactériennes et deux antibiotiques pour la comparaison positive.

L'activité antimicrobienne d'extraits aqueux a été identifiée chez d'autres cyanobactéries telles que *Nostoc commune* (**BROUERS, 2004)¹¹¹**. Ce travail montre que cette activité est également présente chez *Arthrospira platensis*. Elle serait cependant,

modérée en comparaison aux antibiotiques usuels, tel que la kanamycine (TRABELSI et al., 2010)¹¹².

Toutefois, il faut rappeler que ces métabolites sont efficaces dans des traitements locaux d'infections épidermiques (oedème et eczéma) et dans les utilisations traditionnelles par les populations du Ghanem au lac Tchad (BROUERS, 2004)¹¹¹.

Il est important de constater, à ce niveau, l'action sélective de cet extrait en fonction de la nature membranaire de la bactérie cible. En effet, sur les souches étudiées, l'activité antibactérienne n'est observée que sur quelques bactéries Gram négatif notamment, d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aerogenosa* en présence que *Staphylococcus aureus* qui sont Gram positif. Ces observations sont en accord avec les travaux de CHROST effectués en 1975¹¹³.

Il est à noter que la présence ou l'absence des activités, stimulatrice et antimicrobienne, aussi bien que leur intensité, sont tributaires de l'âge de la culture et par conséquent de l'état physiologique de l'espèce productrice (TRABELSI et al., 2010)¹¹².

En effet, les maxima de synthèse des métabolites secondaires sont associés à la phase stationnaire de croissance. De plus, les activités maximales, qu'elles soient stimulatrices ou antimicrobiennes sont toujours inexistantes ou faibles pendant la phase exponentielle de la croissance de *Spirulina platensis* et ne s'affirment qu'au sein de la phase stationnaire. Cela confirme le fait que ces métabolites sont des métabolites secondaires qui sont synthétisés pour jouer un rôle de défense et n'auraient aucune implication directe dans la reproduction et dans la croissance de l'espèce (VON DÖHREN et KLEINKAUF, 2001)¹¹⁴.



Conclusion

Conclusion

Depuis la nuit des temps, il existe sur terre une source nutritionnelle et thérapeutique naturelle sans égale. Richesse protéique, acides aminés essentiels, acides gras essentiels, complexes vitaminiques multiples, fer biodisponible, activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immun-modulatrices, antibactérien et antifongique. Tout ceci est condensé dans une simple algue bleue microscopique nommée *Spirulina platensis*.

Dans ce contexte nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité biologique de la phycocyanine l'extrait de spiruline et du pouvoir antioxydant et leur activité antimicrobienne de cet extrait d'*Arthrospira platensis* (spirulina FOXBEHATAM) la région de Tamanrasset.

D'une part, l'obtention de phycocyanine extraite à partir de la spiruline provenant de région de Tamanrasset.

Cette extraction donne la concentration de phycocyanine obtenues pour la souche étudiée est 0.116mg/ml. Le degré de pureté c'est 3.818.

Dans 4g de spiruline sèche contient 1.752 mg de phycocyanine avec un rendement totale de 43.8%.

La spiruline FOXBEHATAM caractérisée par les polyphénols et les flavonoïdes. La teneur des phénols totaux pour les différentes concentrations variées entre 6.360 ± 0.433 et 520 ± 0.899 mg AGE/g de matière sèche. La teneur des flavonoïdes 1.167 ± 1.310 mg EQ/g de matière sèche.

Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant de tous les extraits des différentes concentrations par la capacité de piégeage de radical DPPH réduction nous enregistrait un 'activité la plus élevée.

Nous avons obtenu une activité antioxydante variant de 9.01 à 60.96 % selon que la concentration de spiruline varie de 2 à 20 mg/ml.

La valeur d'IC₅₀ de l'extrait testé est 16,284 mg/ml.

Et pour l'activité antimicrobienne sur les trois souches d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa* et *Staphylococcus aureus*. Nous'observons aucun résultat pour les souches Gram négatif et les souches positifs il y a une activité biologique.

Donc l'extrait de spiruline affecte la majorité des bactéries Gram positive.

Conclusion

Tout cela et plus encore fait de la phycocyanine un ingrédient hautement efficace sur le plan biologique qui confère à la spiruline une valeur nutritionnelle et pharmacologique élevée.

Dans les pays développés, même si la spiruline n'a suscité l'intérêt des scientifiques que tardivement, elle jouit aujourd'hui d'un intérêt grandissant grâce à ses multiples propriétés thérapeutiques. Ces effets, bien qu'étant plus préventifs que curatifs, en font un complément alimentaire de choix pour prévenir la survenue de maladies tels que les maladies cardiovasculaires, les cancers ou les infections virales, mais aussi pour diminuer les effets secondaires de traitements médicamenteux lourds tels que le sont les traitements antinéoplasiques ou antirétroviraux. Pour une fois, le terme d'aliment fonctionnel pourrait être employé à juste titre, tant le nombre et la qualité des études scientifiques portant sur la spiruline attestent de sa réelle valeur nutritionnelle et de certains effets thérapeutiques.

Au vu de toutes ces propriétés, les professionnels de l'industrie cosmétique, pharmaceutique ou agro-alimentaire, ont pris conscience de l'énorme potentiel commerciale de l'algue bleue. Pour le moment, les produits à base de spiruline sont encore peu nombreux, mais à l'heure actuelle où fleurit le concept de la nutrition-santé, il est certain que le marché des microalgues alimentaires, avec comme chefs de files *Spirulina platensis*, est à l'aube d'une croissance mondiale importante. Dans les années à venir, nos assiettes risquent fortement d'être remplies de micro-algues alimentaires sous une forme ou sous une autre. *Spirulina platensis* apparaît comme l'aliment santé de demain. Au vu de tous ces éléments, l'algue bleue semble donner tout son sens au célèbre aphorisme d'Hippocrate : « *Que ta nourriture soit ton médicament* ».



*Référence
bibliographique*

Référence bibliographique

1. Parikh, P. , Mani, U. et Iyer, U., « Role of Spirulina in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus », *Journal of Medicinal Food*, V. 4, n°4, (2001), 193-199.
2. Ramirez, D. , Gonzalez, R., Merino, N., Rodriguez, S. et Ancheta, O., « Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice. *Mediators of Inflammation* », n°11, (2002), 75-79.
3. Kalafati, M., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Paschalis, V., Theodorou, A. A., Sakellariou, G. K., Koutedakis, Y. et Kouretas, D., « Ergogenic and antioxidant effects of spirulina supplementation in humans », *Med Sci Sports Exerc.*, V. 42, n°1, (January, 2010), 142-151.
4. Khan, M., Shobha, J-C., Mohan, I-K., Rao Naidu, M-U., Prayag, A. and Kutala, V-K., « Spirulina attenuates cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats », *J.Appl. Toxicol.*, V. 26, n°5, (2006), 444-451.
5. Wu, L-c. and Ho, J-a A., « Antioxoydative and Hepatoprotective Effects of Spirulina I » Gershwin & Beby (ed.), *Spirulina in Human Nutrition and Health*, (2007), 119-151.
6. Schwartz, J., Shklar, G., Reid, S. and Trickler, D., « Prevention of experimental oral cancer by extracts of Spirulina-Dunaliella algae », *Nutr. Cancer*, V. 11, (1988), 127-134.
7. Andréani, G., « Spiruline : système sanguine, système immunitaire et cancer », *Phytothérapie*, n° 4, (2005), 158-161.
8. Man, L. « Complementary and alternative medicine for allergic rhinitis », *Curr Opin Otolaryngol Neck Surg.*, n°17, (2009), 226-231.
9. Mahesh, S., Babu, M., Gopaldaswamy, G. and Chandramohan, N., « Identification of an antiviral principle in Spirulina platensis against Bombyx mori Nuclear Polyhedrosis Virus (BmNPV) *Indian Journal of Biotechnology*, V. 4, (July, 2005), 384-388.
10. Whitton, B.A., Potts, M. (2002). *Introduction to the cyanobacteria. The Ecology of Cyanobacteria*. s.l., Kluwer Academic Publishers, pp 669.
11. Chorus I. and Bartram J. *Toxic cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*.

Référence bibliographique

- http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanobacteria.pdf,
12. Mishima T., Murata J., Toyoshima M., Fujii H., Nakajima M., Hayashi T., Kato T and Saiki I. Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*. *Clinical and experimental Metastasis*. 1998; 16: p. 541-550.
 13. Vidalo J-L. *Spiruline: l'algue bleue de santé et de prévention*. Paris: Ed. du Dauphin; 2008.
 14. Gantar M., Svirčev Z. Microalgae and cyanobacteria: food for thought (1). *J Phycol* 2008;44:260–8.
 15. Ciferri O. Spirulina, the edible microorganism. *Microbiol Rev* 1983;47:551–78.
 16. Habib MA., Parvin M, Huntington T., Hasan M. *Review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish*. Rome: 2008. Disponible sur <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/i0424e00.pdf> (dernière consultation December 2020).
 17. Paniagua-Michel J., Dujardin E., Sironval C. Le tecuiltlatl concentré de spirulines sources de protéines comestibles chez les Aztèques. *Cah Agric* 1993:283–7.
 18. Cruchot H. La spiruline: bilan et perspectives. Thèse d'exercice. Université de Franche-Comté. Faculté de médecine et de pharmacie, 2008.
 19. Fox RD. *La spiruline: technique, pratique et promesse*. Aix-en-Provence: Edisud; 1999.
 20. Jourdan J-P. *Cultivez votre spiruline : Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline*. <http://www.antenna.ch/Publications.htm>, page consultée le 06 Janvier2021.
 21. Antenna technologies. Malnutrition: Spiruline données scientifiques 2009. Disponible sur <https://www.antenna-france.org/wp-content/uploads/2021/06/spiruline-donnees-scientifiques.pdf> (dernière consultation Février 2021).
 22. Chopra, K. and Bishonoi, M., —Antioxydante Profile of Spirulina : A Blue-Green Microalga in Spirulina In Gershwin & Belay (ed.) *Spirulina in Human Nutrition and Health*, (2007), 101-118.

Référence bibliographique

23. Chorus, I. and Bartram, J., —Toxic cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management, Disponible sur: http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxycyanobacteria.pdf, page consultée le 11 décembre 2010.
24. Prat R. et Vonarx V., —La structure de chloroplaste : La théorie endosymbiotique, <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Chloroplaste/endosymbiose.htm>, page consultée le 21 janvier 2021.
25. Anonyme, Disponible sur : <http://www.sophienature.com/spiruline.pdf>.
26. Charpy L., Langlade M-J., Alliod R. *La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique?* Marseille: IRD; 2008.
27. Dardoize V. (2010). ‘‘Le Petit FutePyrenees Orientales’’. 7eme Edition. Paris. P 217.
28. Castenholz, R.W., Rippka, R., Herdman M et Wilmotte, A. From – genus I. *Arthrospira* Stizenberger 1852. Bergey’s Manual of systematic Bacteriology (D.R. Boone and Castenholz, eds). V.1(2001) ,542-543.
29. Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. *Form-genus I. Arthrospira Stizenberger 2001*.
30. Geitler L. *Cyanophyceae*. Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz Leipzig, Akademie-Verlagsges. New York: Johnson; 1932. Reprinted 1971. p.1-1196.
31. Watanabe Y., de la Noue J., Hall D.O. (1995). ‘‘Photosynthetic performance of anhelical tubular photo bioreactor incorporating the Cyanobacterium *Spirulina platensis*’’. *Biotechnology and bioengineering*, 47, 2: 261-269.
32. König C. (2007). ‘‘Les algues : première ligne végétale’’. <http://www.futurasciences.com/fr/comprendre/dossiers/doc/t/botanique/d/lesalgues-premiere-ligne-vegetale-523/c3/221/p2/>. Consulté le 31/12/2020
33. Zarrouk. C, « Contribution à l’étude d’une cyanophycée Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler », Université de Paris, 1966.
34. Dr Dupire J. (2011). La spiruline un super aliment. 151p
35. All 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).

Référence bibliographique

36. Hajati H., Mojtaba Z., 2019: *Spirulina platensis* in Poultry Nutrition, Cambridge Scholar Publishing, Livre, p 20.
37. Castellini, A., Canavari, M. and Pirazzoli, C. (2002). « Functional Foods in European Union. An Overview of the Sectors Main's Issues », Working Paper WP012-12, Center of International Food and Agricultural Policy, University of Minnesota.
38. Delpuech F., Joseph A. et Cavelier C., 1975 : Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad). *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation*; 29: p. 497-515.
39. Michka, 2005 : La spiruline pour l'homme et la planète, Terra Magna Georg.
40. Xue. C, Hu. Y, Saito H., Zhang Z., Li Z., Cai Y., Ou C., Lin H., Imbs A. *Molecular species composition of glycolipids from Spirulina platensis*. *Food Chemistry*. 2002; 77: p. 9-13.
41. Falquet, J., Hurni, J.P., 2006 *Spiruline, Aspects Nutritionnels*, Antenna Technologies, 41p.
42. Colla. L.M, Bertolin. T.E, Costa J.A. *Fatty acids profile of Spirulina platensis grown under different temperatures and nitrogen concentrations* . *Zeitschrift fur Naturforschung*. 2004; 59c (1-2): p. 55-59.
43. 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.
44. Babadzhanov. A.S, Abdusamatova. N, Yusupova. F.M, Faizullaeva .N, Mezhlumyan L.G. and Malikova M.Kh. *Chemical composition of Spirulina platensis cultivated in Uzbekistan*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2004; 40 (3): p. 276-279.
45. Palla, J.C. and Busson, F., 1996: Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler (Cyanophycées) *C.R. Acad. Sc. Paris*, T.269, 1704-1707.
46. Pierlovisi, C., 2007 : L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, 162p.
47. Careri, M., Furlattini, L., Mangia, A., Musci, M., Anklam, E., Theobald, A. et Von Holst, C, 2001 *Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in Spirulina Pacifica algae: a chemometric approach*, *J. Chromatography A* 912, 61-71.

Référence bibliographique

48. Tang, G., Qin, J., Dolnikowski, G.G. and Russell, R.M., 2000: Vitamin A equivalence of beta-carotene in a woman as determined by a stable isotope reference method.
49. Vincenzini, M, Ferrari, F., Margheri, M.O. and Florenzano, G.,1980 : Quinonoid and tocopherol levels in *Spirulina platensis*. *Microbiologica* V. 3,131-136.
50. Challem, J.J. et Passwater, R.A, 1981: Mindell-EM. *Spirulina*. Keats Publishing, Inc. New Canaan, Connecticut.
51. Guyton, A.C., 1986: Textbook of Medical Physiology. 7th. ed. W.B. Saunders Company.
52. Todd-Lorenz, R., 1999: *Spirulina Pacifica* as a Source of Cobalamin Vitamin B-12 *Spirulina Pacifica* Technical Bulletin 05.
53. Kondo, H., Kolhouse, J.F. et Allen, H.,1980 : Presence of cobalamin analogues in animal tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, V. 77, n°2,817-821.
54. Noguchi, Y., Ishii, A., Matsushima, A., Haishi, D., Yasumuro, K., Moriguchi, T., Wada, T., Kadera, Y., Hiroto, M., Nishimura, H., Sekine, M., et Inada, Y., 1999 : Isolation of Biopterin-alpha-glucoside from *Spirulina (Arthrospira) platensis* and Its Physiologic Function, *Mar. Biotechnol.*, V. 1, n°2,207-210.
55. Hattori, Y., 2002: Diseases and Pathophysiology Arising from Biopterin Dysregulation, *J. Med. Sci.*, V. 22, n°3, 99-100.
56. Campanella L., Crescentini G. and Avino P, 1999: Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*. *Analisis*. p. 533-540.
57. Planes, P., Rouanet, J.M., Laurent, C., Baccou, J.C., Besancon, P. and Caporiccio, B., 2002: Magnesium bioavailability from magnesium-fortified spirulina in cultured human intestinal Caco-2 cells *Food Chemistry*, V. 77, n° 2,213-218.
58. Chen, T., Wong, Y.S., Zheng, W., 2006. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Phytochemistry* 67, 22. 2424-2430.

Référence bibliographique

59. Cases, J., Puig, M., Caporiccio, B., Baroux, B., Baccou, J.C., Besancon, P. and Rouanet, J.M., 1999: Glutathione-related enzymic activities in rats receiving high cholesterol or standard diet supplemented with two forms of selenium Food Chemistry, V. 65, n°2, 207-211.
60. Mazo, V.K., 2004: Microalga spirulina in human nutrition, Vopr Pitan, V, 45-53.
61. Singh, Y., Kumar, H.D., 1994: Adaptation of a strain of Spirulina platensis to grow in cobalt- and iodine-enriched media, J-Appl-Bacteriol., V. 76, n°2, 149-154.
62. Sall M.G, Dankoko B., Badiane M., Ehua E. et Kuakuwin N. *Résultats d'un essai de réhabilitation nutritionnelle avec la Spiruline à Dakar (à propos de 59 cas)*. 1999; 46 (3): p.143-146.
63. Romay C., Gonzalez R., Ledon N., Remirez D., and Rimbau V. *CPhycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects* . Current Protein and Peptide Science. 2003; 4: p. 207-216.
64. Benson D.A., Karsch-Mizrachi I., Lipman D.J., Ostell J, Rapp BA, Wheeler DL *GenBank*. janvier 2000; 28 (1): p. 15-18. Australian government, Department of Health and Ageing Therapeutic. *Compositional guideline, Arthrospiraplatensis*.
65. http://de.wikipedia.org/wiki/datei:thylakoide_membrane.svg. Consulté 18 Avril 2021.
66. www.sud-spiruline.com/content/10-composition-spiruline. consulté la page 01 Avril 2021.
67. Li, L., Zhang, J., Jiang, T., Guo, B., Chang, W. Liang, D. 2001. Purification, crystallization and preliminary crystallographic investigations of selenium-containing phycocyanin from selenium-rich algae (Spirulina platensis). Science in China, 44, (4), 337-344.
68. Handelman G.J., van Kuijk F.J., Chatterjee A., Krinsky N.I. (1991). "Characterization of products formed during the autoxidation of beta-carotene". *Free Radic Biol Med.*, 10: 427-437.
69. Boudaoud. S 2016 : L'incorporation de la spiruline sur les qualités nutritionnelles, organoleptiques et technologiques du couscous artisanal. Mémoire de master en Technologie des industries agro-alimentaires, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.
70. Gupta, M., Dwivedi, U. N., Khandelwal, S., 2011. C-phycocyanin: An effective protective agent against thymic atrophy by tributyltin; toxicology letters, 204. 2-11.
71. Kitagawa S., Sakamoto H., Tano H. (2004). "Inhibitory effects of flavonoids on free radical-induced hemolysis and their oxidative effects on hemoglobin". *Chem.Pharm.Bull.*, 52: 999-1001.

Référence bibliographique

72. Hall DO, Rao KK (1999) photosynthesis, 6th edition, Cambridge University Press UK.
73. [http://en.wikipedia.org/wiki/thylakoid/media/fil : tuylakoid-disc.png](http://en.wikipedia.org/wiki/thylakoid/media/fil:tuylakoid-disc.png) consulté 18 Avril 2021.
74. 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.
75. Casal A., 2019 : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr
76. Evoliconseil, Dupont D., Souchon I., 2014: Structure des Aliments et Effets Nutritionnels, Edition Quae, RD 10, 78026 Versailles Cedex. P 451.
77. 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.
78. Qu'est-ce que le stress oxydatif ? [Internet]. cité 23 Avril 2021 .www.meltonic.fr/A-2251-sport-sante-le-stress-oxydatif.aspx.
79. http://www.anastore.com/fr/dossiers/1_articulation_les_radicaux_libres.php#:~:text=On put distinguer différents types, et radicale peroxy-nitrite1. Consulté 25 Avril 2021.
80. Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C. (1999). Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.
81. Frankel, E.N. (1998). Lipid oxidation. Dundee, UK : The Oily Press.
82. Miller, N.J ; Sampson, J ; Candeias, L.P., et al. (1996). Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Lett*, 384 : 240-2.
83. Barlow, S.M. (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. Ed. Hudson, B.J.F, Food Antioxidants: 253-307.
84. Moure, A ; Franco, D ; Sineiro, J ; Dominguez, H ; Nunez, M.J, Lema, J.M. (2000). Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants, *J Agric Food Chem*, 48 : 3890-7.
85. Antwerpen, P.V. (2006). Contribution à l'étude du pouvoir antioxydante de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myclopéroxydase / Peroxyole d'hydrogène/ Clilorure. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Science Pharmaceutiques Bruxelles.

Référence bibliographique

- 86.** Marfak, A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoides, etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : Formation de depsides. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Limoges.
- 87.** Goussard, J. P. (1999). Les radicaux libres et antioxydantes, p 7-11.
- 88.** Evans, J.L; Goldfine, I.D; Maddux, B.A; Grodsky, G.M. (2002). Oxidative stress and stress- activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabets, *Endocr Rev*, 23: 599-622.
- 89.** Curtay, J.P ; Robin, J.M. (2000). Intérêt des complexes antioxydantes. Centre d'étude et développement de la nutrithérapie.
- 90.** Allard, J; Royall, D; Kurian, R; Muggli, R; Jeejee bhoy, K. (1994). Effects of β -carotene supplementation on lipid peroxidation in humans, *Amj Clim Nutr*, 59: 884 – 90.
- 91.** Gerard-Monnier, D ; Chaudière, J., (1996). Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion, *Path Biol* , 44 : 77 – 85.
- 92.** Boizot, N ; Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *INRA*, 79-82.
- 93.** Ito, N ; Fukushima, S ; Tsuda, H. (1985). "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic responses by BHA, BHT and other antioxidants". *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 15: 109-150.
- 94.** Kaushik P., Chauhan A., 2008:In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of *Spirulina platensis*. *Indian J. Microbiol.* 48 :348–352.
- 95.** 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.
- 96.** Andreani C. G., 2012 : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.
- 97.** La spiruline et le cholestérol [Internet]. [cité 22 févr 2021] : Disponible sur: <https://www.spirulinefrance.fr/bienfaits-spiruline/la-spiruline-et-le-cholesterol>.

Référence bibliographique

- 98.** L'acide gamma linoléique (AGL) de l'algue spiralée [Internet]. [Cité 22 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.spirulinefrance.fr/bienfaits-spiruline/acide-gammalinolenique-spiruline> 20. Mazokopakis.
- 99.** Belay A, 2002. The potentiel application of Spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management .The Journal of the American Nutraceutical. p. 26-49.
- 100.** M'Baye, B.K., LÔ, B.B., Bassene, E., 2011. Etude des carotenoides, des phycocyanines et des protéines de la spiruline en Mauritanie. Science Lib Editions Mersenne, 3, (110906). ISSN 2111.4706pp.
- 101.** Brand-Williams. W. Cuvelier. M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie /*Food Science and Technology*, 28: 25-30.
- 102.** Moukette Moukette, B., Pieme, C.A., Nya Biapa, P.C., Njimou, J.R. and Ngogang Yonkeu, (2015). Radicals quenching potential, protective properties against oxidative mediated ion toxicity and HPLC phenolic profile of a Cameroonian spice: *Piper guineensis*. *Toxicology Reports*; 2:792– 805.
- 103.** Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*; 50: 6882–90.
- 104.** Benhammou, N; Atik Bekkara, F; Kadifkova, P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
- 105.** BAUER, A.W.M. MKIRBY, JC ; 1996. Sherris and microalgae *spirulina platensis*. Revista de Ciencia M. Turc. Antibiotic susceptibility testing by a Farmaceuticas Basicae Aplicada, Araraquara, standardized single disk method. Amer. J. Clin. 30(3) 97-301. Pathol., 45(4) :493-496.
- 106.** Pokorny, J; Yanishlieva, N; Gordon, M. (2001). Antioxydantes in food, Practical applications. Woolhead Publishing Limited. ISBN: 185573-463X.

Référence bibliographique

- 107.** PIERLOVISI Carole; 2008. COMPOSITION CHIMIQUE DE LA SPIRULINE. Colloque international sur la spiruline : « LA SPIRULINE ET LE DEVELOPPEMENT », TOLIARA SUD- OUEST DE MADAGASCAR, 28-29 et 30 avril 2008. Pp (25-29).
- 108.** BOUTALBI SAFA ; 2014. Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospira platensis*). Mémoire MASTER ACADEMIQUE, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologique.
- 109.** LOÏC CHARPY, MARIE JOSE LANGLADE ET ROMAIN ALLIOD ; 2008. La Spiruline peut- elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? , Institut de Recherche pour le Développement Marseille, France .p67
- 110.** LAFRI Imène, JEMNI Monia, BENSEHAILA Sarra et BOUTEKRABT Lynda ;2017. ÉVALUATION DES MÉTHODES D'EXTRACTION DE LA PHYCOCYANINE ET SON RENDEMENT Á PARTIR DE *SPIRULINA PLATENSIS* en Revue Agrobiologia p 623-632.
- 111.** BROUERS M. ; 2004. Traditional use of Spirulina (*Arthrospira platensis*) in Chad. International Symposium: CSSD “Cyanobacteria for health, Science and Development”, Embiez Island France.
- 112.** TRABELSI L., BEN OUADA H., BASSA H.;2010.Activités biologiques des métabolites excrétés par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospira platensis* .Springer-Verlag 8: 282–289.
- 113.** CHROST RJ ; 1975. Inhibitors produced by algae as an ecological factor affecting bacteria in water ecosystems. Acta Microbiol Pol Ser B 7: 125–33.
- 114.** VON DÖHREN H, KLEINKAUF H ; 2001. Peptide antibiotics In: Dörhen Von H and Kleinkauf H (ed). Products of secondary metabolism. Wiley-vch, Germany, pp 305–9.



Annexes

Annexe I

Matériels et appareillages



Les verreries



Balance



Centrifugeuse



Spectrophotomètre



Agitateur de tube à essai



Matériels pour l'activité antimicrobienne



Les différentes concentrations testées



Etuve



Bec Bunsen

Annexe II

Calculs des teneurs des phénols totaux de différentes concentrations d'extrait

concentration	DO moyenne	X	C mg/ml/dill	C mg EAG/gMS	C mg/100g MS
		-	-	-	-
0,01	0,53	0,01439219	0,14392187	3,59804677	359,804677
			-	-	-
0,02	0,64	-0,000257	0,00257003	0,06425084	6,42508353
0,03	0,68	0,00488306	0,04883063	1,22076587	122,076587
0,04	0,74	0,01259316	0,12593164	3,14829093	314,829093
0,05	0,76	0,0151632	0,15163197	3,79079928	379,079928
0,06	0,76	0,0151632	0,15163197	3,79079928	379,079928
0,07	0,81	0,02158828	0,21588281	5,39707016	539,707016

Annexe III

Calculs des teneurs des flavonoïdes de différentes concentrations d'extrait de phycocyanine

concentration	DO moyenne	X	C mg/ml/dill	C mg EQ/gMs	C mg/100g MS
0,01	0,118	0,00467036	0,0467036	1,16759003	116,759003
0,02	0,132	0,00474792	0,04747922	1,18698061	118,698061
0,03	0,15	0,00484765	0,04847645	1,21191136	121,191136
0,04	0,151	0,00485319	0,04853186	1,2132964	121,32964
0,05	0,173	0,00497507	0,04975069	1,24376731	124,376731
0,06	0,221	0,005241	0,05240997	1,31024931	131,024931

Annexe IV

Résultats du piégeage du radical libre DPPH trouvés pour les extraits avec différent concentration

[C] mg/ml	DO moyenne	% I
2	0,394	9,01
4	0,3695	14,66
6	0,345	20,32
8	0,319	26,32
10	0,29	33,02
12	0,268	38,1
14	0,243	43,87
16	0,22	49,19
18	0,195	54,96
20	0,169	60,96