



N° d'ordre :

N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي  
Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

### THEME

*Contribution de l'étude de l'activité biologique  
de phycocyanine extrait d'*Arthrospira  
platensis**

Présenté par :

- ✓ FEREDJ Roumaissa
- ✓ ZABI Asma
- ✓ CHOUIREF Thouraya
- ✓ SADOUN Ahlam

Devant le jury composé de :

Président : Mme. MOKHTARI Majda M.C.B, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.  
Examineur : Mme. OTHMANI Hadjer M.C.B, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.  
Promotrice : Mr. KIRAM Abderrazak M.A.A, Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي  
خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ  
وَالَّذِي يُضَوِّبُ الْمَوْتَى  
إِنَّ رَبَّهُ لَسَدِيدٌ  
إِلَىٰ عَرْشِهِ الرَّحِيمُ  
الَّذِي يُرْسِلُ الرِّيَّاحَ  
تُضَوِّبُ السَّحَابَ الْمَوْبِقَ  
الَّذِي يُرْسِلُ السَّمَكَ  
الْمَوْبِقَ لِيَأْكُلُوا مِنْهُ  
وَيَسْبَوْنَ مِنْهُ وَهُوَ  
بِئْسَ مَا يَكْفُرُونَ  
الَّذِي يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ  
وَيُخَوِّضُ السَّمَكَ فِي  
الْبَحْرِ كَمَا يَخَوِّضُ  
السَّحَابَ فِي السَّمَاءِ  
وَالَّذِي يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ  
وَيُخَوِّضُ السَّمَكَ فِي  
الْبَحْرِ كَمَا يَخَوِّضُ  
السَّحَابَ فِي السَّمَاءِ

## **REMERCIEMENTS**

*Merci Nous voudrions tout d'abord exprimer notre gratitude à tous ceux  
qui ont offert leur collaboration professionnelle en tant que membre  
du jury pour avoir accepté d'étudier ce modeste ouvrage.*

*Aux deux professeurs, **Dr. Mokhtari Majida** et **Othmani Rajar**,  
qui nous ont accordé l'honneur d'accepter la présidence et de l'examiner du jury,  
notre message : Sincèrement, merci.*

*Nous remercions également le superviseur, **Dr. Kiram Abderrazak**, sans lui,  
ce travail ne peut aboutir. Merci pour votre gentillesse, votre confiance en nous,  
votre soutien pratique, votre moral, votre patience,  
votre présence et votre participation active tout le temps durant ce travail.*

*Merci de croire en nous et en notre travail.*

*Nous ne trouvons pas de mots pour exprimer toute notre gratitude... Merci pour tout.*

*Nous tenons à remercier tous les employés du Laboratoire pédagogique de biologie  
et Mme **Gharaisa Houra** pour leur présence et leur soutien.*

*Nous tenons à remercier tous les travailleurs du laboratoire d'analyses médicales  
de l'hôpital **Al-Amra Saad** à **Al-Dabila Al-Wadi**, en particulier*

*Mme **Boughazaleh Sara** pour leur soutien.*

*Et les derniers remerciements iront à nos familles pour nous avoir hébergés durablement  
et soutenus durant nos études, être toujours là pour nous, et merci à nos frères et sœurs.*



## *DEDICACE*

*Nous dédions notre travail.*

*Pour nos mères et nos pères.*

*À tous les membres de notre famille,*

*en particulier nos chères sœurs*

*Pour tous nos enseignants du primaire à l'université,*

*fin du voyage à tous les proches,*

*amis et collègues À tous ceux qui m'ont apporté leur aide et leurs conseils.*

Notre travail a porté sur l'évaluation de plusieurs méthodes d'extraction de la phycocyanine, a partir biomasse sèche de spiruline cultivé dans trois différente régions X1, X2 et X3.

Afin d'en déduire la méthode optimale pour obtenir une grande concentration de phycocyanine. On a évaluées cinq (05) méthodes d'extraction (eau, congélation, sonification, solvant et macération au glycérol). La macération au glycérol est la meilleure méthode d'extraction de la phycocyanine pour tous les échantillons X1,X2 et X3 avec un rendement (3.64, 1.81, 5.44 mg/ml) respectivement , Suivi par la méthode eau, solvant, congélation et sonification avec des rendements de ( 0.73, 0.29, 0.06, 0,01 mg/ml ) en Spiruline X1 et 0.42, 0.29, 0.04, 0.007 mg/ml en Spiruline X2 et enfin (2.20, 0.025, 0.02, 0.005 mg/ml) en Spiruline X3. Dans l'échantillon de Spiruline X1 a une forte teneur en chlorophylle "a", "b", car (Chl a =21.71 , Chl b=5.98 et Car= 3.428 ) alors que spiruline X2a une forte teneur en polyphénols totaux (7.889mg/ml) et spiruline X3 a une forte teneur en pigment (C-PC=0.08, A-PC=0.03, PE=0.01 et phycocyanine=2.20%) .

L'activité antioxydant a été déterminée, car il a été montré que l'extrait méthanolique de l'échantillon X1 avait l'activité antioxydant la plus élevée (IC50 = 7,685, EC50 = 1,783 mg/ml), car il n'était pas corrélé avec la teneur phénolique totale de cette extrait car il contient un faible taux de polyphénols totaux. Quant à l'activité du soleil, X3 a enregistré la meilleure protection contre les rayons solaires (SPF = 7,4), en raison de sa forte teneur en phycocyanine par rapport au reste des échantillons pour l'extrait aqueux.

**Mots clés** : spiruline, Phycocyanine, polyphénols totaux, pigment, activité antioxydant, activité antisolaire, Algérie.

Our work focused on evaluating several methods for extracting phycocyanin, from dry spirulina biomass grown in three different regions X1, X2, and X3.

In order to deduce the optimal method for obtaining a large concentration of phycocyanin. Five (05) extraction methods (water, freezing, signification, solvent and glycerol softening) were evaluated. Soaking glycerol is the best method for extracting phycocyanin for all X1, X2, and X3 samples with yields (3.64, 1.81, 5.44 mg/ml) respectively, followed by water, solvent, freezing, and signification method with yields (0.73, 0.29, 0.06, 0.01 mg/ml) In Spirulina X1 and 0.42, 0.29, 0.04, 0.007 mg/mL in Spirulina X2 and finally (2.20, 0.025, 0.02, 0.005 mg/mL) in Spirulina X3. In the sample Spirulina X1 had a high content of chlorophyll a, b, Car (Chl a = 21.71, Chl b = 5.98 and Car = 3.428) while Spirulina X2 had a high content of total polyphenols (7.889 mg/ml) Spirulina X3 has a high content of the pigment (C-PC = 0.08, A-PC = 0.03, PE = 0.01 and phycocyanin = 2.20%).

The antioxidant activity was determined, as the methanolic extract of sample X1 was shown to have the highest antioxidant activity (IC<sub>50</sub> = 7.685, EC<sub>50</sub> = 1.783 mg/ml), as it was not related to the total phenolic content of this extract because it had a low level of total polyphenols. As for the sun's activity, X3 scored the best protection against sunlight (SPF = 7.4), because it contains a high percentage of phycocyanin compared to the rest of the aqueous extract samples.

**Key words:** Spirulina, phycocyanin, total polyphenols, pigment, antioxidant activity, antispasmodic activity, Algeria.

ركز عملنا على تقييم عدة طرق لاستخراج الفيكوسيانين ، من الكتلة الحيوية الجافة للسيرولينا المزروعة في ثلاث مناطق مختلفة X1 و X2 و X3.

من أجل استنتاج الطريقة المثلى للحصول على تركيز كبير من الفيكوسيانين. تم تقييم خمس (05) طرق استخلاص (ماء ، تجميد ، صوتنة ، مذيب وتنعيم الجلوسرين). نفع الجلوسرين هو أفضل طريقة لاستخلاص الفيكوسيانين لجميع عينات X1 و X2 و X3 بإنتاجية (3.64 ، 1.81 ، 5.44 مجم / مل) على التوالي ، يليها طريقة الماء ، والمذيبات ، والتجميد ، والصوتنة بعوائد (0.73 ، 0.29 ، 0.06 ، 0.01 مجم / مل) في سيرولينا X1 و (0.42 ، 0.29 ، 0.04 ، 0.007 مجم / مل) في سيرولينا X2 وأخيراً (2.20 ، 0.025 ، 0.02 ، 0.005 مجم / مل) في سيرولينا X3. في عينة Spirulina X1 يحتوي على نسبة عالية من الكلوروفيل "a" ، "b" ، السيارة (Chl a = 21.71 ، Chl b = 5.98 و Car = 3.428) بينما تحتوي سيرولينا X2 على نسبة عالية من إجمالي البوليفينول (7.889 مجم / مل) وسيرولينا X3 يحتوي على نسبة عالية من الصبغة (C-PC = 0.08 ، A-PC = 0.03 ، PE = 0.01 و phycoyanin = 2.20 %).

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة ، حيث تبين أن المستخلص الميثانولي للعينة X1 يحتوي على أعلى نشاط مضاد للأكسدة (IC50 = 7.685 ، EC50 = 1.783 مجم / مل) ، حيث لم يكن مرتبطاً بالمحتوى الفينولي الكلي لهذا المستخلص لأنه يحتوي على مستوى منخفض من البوليفينول الكلي. أما بالنسبة للنشاط المضاد للشمس ، فقد سجل X3 أفضل حماية ضد أشعة الشمس (SPF = 7.4) ، وذلك لاحتوائه على نسبة عالية من الفيكوسيانين مقارنة بباقي عينات المستخلص المائي.

**الكلمات المفتاحية:** سيرولينا ، فيكوسيانين ، بوليفينول كلي ، صبغة ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للشمس ، الجزائر.



*Les listes*

Chla : chlorophylle a

Chlb : chlorophylle b

Car : caroténoïdes

C-PC : phycocyanine

APC : Allophycocyanine

PE : phycoérythrine

PC : phycocyanine brute

SPF: Facteur de protection solaire.

<b>Figure 01 :</b> Morphologies typiques de la Spiruline.	7
<b>Figure 02 :</b> Diagramme de positionnement de la spiruline par rapport à d'autres aliments en termes de protéines.	16
<b>Figure 03 :</b> Phases lumineuse et obscure de la réaction de photosynthèse.	26
<b>Figure 04:</b> Structure des phycobilines (Chromophores).	28
<b>Figure 05:</b> Différence entre les phycobilines.	29
<b>Figure 06:</b> Structure des phycobilisomes.	29
<b>Figure 07:</b> Les trois échantillon de spiruline X1, X2 et X3.	39
<b>Figure 08:</b> Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X1.	50
<b>Figure 09:</b> Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X2.	50
<b>Figure 10:</b> Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X3.	51
<b>Figure 11 :</b> Teneur en polyphénols de différentes échantillons de spiruline.	52
<b>Figure 12:</b> Teneur en chlorophylle <i>a</i> , <i>b</i> et caroténoïdes en (mg/g) dans différentes souches de spiruline.	53
<b>Figure 13:</b> Valeurs IC50 pour les extraits de spiruline X1, X2 et X3 et de standard en mg/ml.	56
<b>Figure 14:</b> Valeurs EC50 pour les extraits de spiruline X1, X2 et X3 et de standard en mg/ml.	57
<b>Figure 15:</b> la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X1.	59
<b>Figure 16:</b> la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X2.	60
<b>Figure 17:</b> la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X3.	60

<b>Tableau 01:</b> Distribution géographique naturelle d' <i>Arthrospira platensis</i> .	5
<b>Tableau 02 :</b> Résumé de plusieurs descriptions morphologique d' <i>Arthrospira platensis</i> (Antenna Technologie).	7
<b>Tableau 03 :</b> Analyse d'un milieu de culture typique.	10
<b>Tableau 04 :</b> Composition en acide aminés de la spiruline.	16
<b>Tableau 05 :</b> Composition en minéraux de la spiruline en $\mu\text{g/g}$ de sa matière sèche.	19
<b>Tableau 06:</b> Teneurs en pigments exprimés en en mg pour 10g de matière sèche de <i>Spirulina platensis</i> .	21
<b>Tableau 07:</b> Composition nutritionnelle de la spiruline et rôle de chaque composant.	22
<b>Tableau 08:</b> Composition en vitamines et rôle de chaque composant.	23
<b>Tableau 09:</b> Composition en minéraux et rôle de chaque composant.	24
<b>Tableau 10:</b> Composition en acides aminés essentiels et rôle de chaque constituant.	25
<b>Tableau11:</b> Propriétés pharmacologiques et biologiques des phycocyanines.	33
<b>Tableau 12:</b> Valeurs des concentrations et des rapports de pureté de la spiruline de X1, X2 et X3 en fonction du mode d'extraction.	49
<b>Tableau 13 :</b> Teneur en phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) en (%), phycocyanine brute en (%) et pureté.	54
<b>Tableau 14:</b> Activités antioxydants de la spiruline X1, X2 et X3.	58
<b>Tableau 15:</b> Les valeurs SPF moyenne $\pm$ écart type des extraits de phycocyanine.	61

Remerciements.....	
Dédicace.....	
Résumé.....	I
Abstract .....	II
ملخص .....	III
Liste des abréviations .....	IV
Liste des figure .....	V
Liste de tableaux.....	VI
Table de matières.....	VII
Introduction.....	1

## **Synthèse bibliographique**

### **Chapitre I: Généralités sur la spiruline**

I. 1. Définition.....	4
I.2. Historique.....	4
I. 3. Biotope et répartition géographique d' <i>Arthrospira platensis</i> .....	5
I. 4. Classification.....	6
I. 5. Morphologie.....	6
I. 6. Reproduction.....	8
I. 7. Cycle biologique.....	8
I. 8. Production de la SPIRULINE.....	9
I. 9. Mouvement de la SPIRULINE.....	9
I.10. Culture.....	9

I.10.1. Condition de culture.....	9
I.10.1.1.Température.....	9
I.2.1.2. Lumière.....	10
I.10.1.3. Ph.....	10
I .10.2. Milieu de culture.....	10
I.10.2.1 L'eau.....	11
I.10.2.2 Les éléments nutritif.....	11
I .10.2.3 Différents modes de production de spiruline.....	11
I .11. Principales applications de la spiruline.....	12

## **Chapitre II: les compositions de la spiruline**

II.1. La composition chimique de la spiruline.....	15
II.1.1. Composition en protéines et acides aminés.....	15
II.1. 2. Lipides.....	17
II.1.2.1. Lipides totaux.....	17
II.1.2.2. Acides gras.....	18
II.1.3. Glucides.....	18
II.1.4. Minéraux et oligo-éléments.....	18
II.1.4.1.Fer.....	19
II.1.4.2.Zinc.....	20
II.1.4.3.Magnésium.....	20
II.1.4.4.Sélénium.....	20
II.1.4.5.L'iode.....	20
II.1.5. Pigments.....	20
II.1.6. Photosynthèse des microalgues.....	25

II.2. Composés bioactifs de la spiruline.....	27
II.2.1. Définition des composés biactifs.....	27
II.2.2. Phycobiliprotéines.....	27
II.2.3. Phycobilisomes.....	29
II.2.4. Phycocyanine .....	30
II.2.5. Purification et stabilité de la phycocyanine.....	30
II.2.5.1. Purification.....	30
II.2.5.2. Stabilité .....	32
II.2.6. Activités thérapeutiques de la phycocyanine.....	33
II.2.7. Intérêt de l'extraction de la phycocyanine.....	34

### **Chapitre 03: Les activités thérapeutiques de la spiruline**

1. Les activités thérapeutiques de la spiruline.....	36
1.1. Activité antibactérienne.....	36
1.2. Activité antioxydant.....	36
1.3. Activité antivirale.....	36
1.4. Activité anticancéreuse.....	37
1.5. Activité anti-hypercholestérolémiant.....	37
1.6. Autres effets.....	38

### **Partie pratique**

#### **Chapitre I.: matérielle et méthode**

I.1. Matériel.....	39
I.1.1. Matériel biologique.....	39
I.1.2. Matériel expérimental.....	39
I.2. Méthodes.....	39
I.2.1. Extraction.....	39
I.2.1.1. Phycocyanine.....	39
I.2.1.1.1. Extraction par l'eau.....	40
I.2.1.1.2. Extraction par sonification.....	40
I.2.1.1.3. Extraction par congélation.....	41

I.2.1.1.4. Extraction par solvant.....	42
I.2.1.1.5.Extraction par macération dans le glycérol.....	42
I.2.1.2. Poly phénols totaux.....	43
I.2.1.3. chlorophylle a, b et caroténoïdes.....	44
I.2.1.4. Pigments solubles dans l'eau (phycobiliprotéines).....	45
I.2.2. Activité antioxydant.....	45
I.2.2.1.Méthode au diphenylpicrylhydrazyl (DPPH).....	45
I.2.2.2. Détermination du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP.....	46
I.2.3. Activité antisololaire.....	47

## **Chapitre II : résultat et discussion**

II.1. Extraction.....	49
II.1.1. Teneur en phycocyanine.....	49
II.1.2. Teneur en poly phénols totaux.....	52
II.1.3. Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes.....	53
II.1.4. Teneur en phycobiliprotéines.....	54
II.2. Activité anti oxydante.....	55
II.2.1. Méthode au diphenylpicrylhydrazyl (DPPH).....	56
II.2.2. Détermination du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP.....	57
II.2.3. Discussion générale de l'activité antioxydant.....	58
II.3. Activité anti solaire.....	59
Conclusion.....	62
Référence bibliographique.....	64
Annexes.....	78



*Introduction*

## Introduction

---

La production de plantes à haute valeur nutritive est d'une grande importance pour l'homme afin de sécuriser son alimentation et sa santé, d'autant plus qu'elles sont la principale source de nourriture. Que ce soit la culture végétale, les microalgues, les bactéries....etc. Parce qu'il fournit différents types de produits, dont les plus importants sont les métabolites primaires et secondaires, à prendre immédiatement par l'homme sous forme de médicaments comme compléments nutritionnels ou à partir desquels différents types d'aliments sont fabriqués.

Le champ d'application des microalgues a longtemps été contenu dans les domaines de l'aquaculture, de l'alimentation pour animaux d'élevage, voire de complément pour l'alimentation humaine. Les récents progrès accomplis en recherche fondamentale et appliquée ont fait entrer les microalgues dans l'ère de la génomique.

Dans le monde, les micro-algues a un fort intérêt en santé humaine du fait de leur composition riche en molécules nutritionnels et à activités protectrices pour l'organisme : activités antioxydant, antimicrobienne, elle est pratiquée aujourd'hui à grande échelle dans plusieurs pays, tels que les Etats-Unis d'Amérique et la Chine.

*Spirulina platensis* est une algue bleu-vert grâce à la chlorophylle (vert) et la phycocyanin (bleu) contenue dans les phycobilisomes. La spiruline, grâce à ses qualités nutritionnelles exceptionnelles, est introduite dans l'alimentation humaine, notamment comme complément protéique d'une alimentation suffisamment active. En raison de sa forte teneur en protéines, cette dernière est constituée de 50 à 65 % de protéines, ce qui la rend particulièrement attractive pour les aliments humains ou animaux, parmi lesquels figurent les phycocyanines (GENERALE, 1999). La phycocyanine est généralement extraite à partir de la cyanobactérie spiruline (*Arthrospira platensis*). Elle n'est pas synthétisable par voie chimique.

Actuellement, la demande du consommateur en produits naturels pour des impératifs écologiques est en constante progression confortée par une législation qui tend à substituer les composants synthétiques par des produits naturels. Elle est déjà introduite comme composant dans des crèmes de soin de la peau, des masques de beauté et des produits solaires (Mata, 2010). En raison de ces applications pharmaceutiques et alimentaires, le choix de la méthode d'extraction de la phycocyanine revêt une importance primordiale.

En Algérie, Les conditions sont réunies pour booster la culture de la spiruline bio, reconnue comme complément alimentaire très nutritif, dans les régions du sud du pays, ont estimé des spécialistes à Ouargla. Il s'agit de la disponibilité de l'ensemble des conditions naturelles, notamment les caractéristiques du climat et la qualité

## Introduction

---

de l'eau utilisable dans la culture de la spiruline, surnommée aussi « aliment miracle », la culture de la spiruline a donné des résultats jugés probants dans le Sud, à l'instar de la wilaya de Tamanrasset, au vu du succès grandissant obtenu par le chercheur Abdelkader, qui a mis la souche locale de spiruline à la disposition des personnes intéressées par l'étude et la production de la spiruline, a-t-il poursuivi. Introduite conjointement par M. Hiri et la direction de la Pêche et des Ressources halieutiques (DPRH) de la wilaya de Ouargla en 2006, s'agissant de ses utilisations, il a rappelé que la spiruline est consommée aujourd'hui par l'être humain comme complément alimentaire pour favoriser, entre autres, la baisse de la pression artérielle et du cholestérol et aider à lutter contre la fatigue musculaire, l'anémie, le cholestérol, les carences en vitamines et d'autres pathologies. Une ferme spécialisée dans la production de la spiruline est projetée dans la wilaya de Biskra, selon la DPRH. D'une capacité théorique de 30 tonnes de spiruline par an.

Malgré les applications pharmaceutiques et nutritionnelles de la spiruline et de la phycocyanine dans un patch spécial, leur investissement et leur valorisation sont très peu nombreux en Algérie. Par conséquent, le choix de la méthode d'extraction de la phycocyanine est d'une importance primordiale.

Alors, Quelle est la meilleure façon d'extraire la phycocyanine ? Et cet extrait a-t-il un effet biologique (anti-oxydant, anti-soleil)?

Dans notre étude a porté sur la comparaison de trois (03) échantillons de spiruline dans 03 régions différentes en Algérie en termes de leur contribution à l'activité antioxydant et antisolaires. Nous apprenons de ce travail les méthodes d'extraction, activité biologique, l'analyse physico-chimique et aussi la culture de la spiruline.

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'activité thérapeutique de la spiruline.

\* Partie pratique 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.

## Introduction

---

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



*Chapitre I*  
*Généralité de la spiruline*

## **I. 1. Définition**

La SPIRULINE est une algue unie ou multicellulaire appartenant au groupe de cyanobactéries (utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse), elle vit en eau salée, alcaline et chaude de température environ 30°C à 40°C. Son nom dérive de la configuration physique hélicoïdale et spiralée de ses filaments. Ces derniers prennent la forme hélicoïde quand l'environnement est favorable (**Manet, 2016**).

La SPIRULINE possède une morphologie proche celle les algues, et sa teneur de pigments vert et bleu faits les classer parmi les algues bleu-vert (**Jarisoa, 2005**). En effet, elle est longtemps restée classée parmi « les algues bleu-vert », ce pour plusieurs raisons (**Hélène, 2008**) :

- ◇ La présence d'un système photosynthèse producteur d'oxygène.
- ◇ Son morphologie proche de celle des algues.
- ◇ Son habitat aquatique.
- ◇ Son aptitude à développer des biomasses importantes.
- ◇ Sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle) (**Manet, 2016**).

## **I.2. Historique**

Arthrospira, bien que déjà décrite par Wittrock et Nordstedt en 1844, ne fut vraiment redécouverte qu'en 1940 au Tchad par un botaniste français du nom de Dangeard. Les Kanem bous, tribu du Tchad, la consomment encore de nos jours sous le nom de Dihé. Depuis, on a su par les archives mexicaines que Arthrospira était aussi consommée du temps des Aztèques (**Farrar, 1966**), bien avant l'arrivée des Espagnols, sous le nom de Tecuitlatl. Depuis la mise en place de la culture en masse du micro algues à la fin des années 50, elle connaît un regain de popularité pour l'alimentation humaine. Cependant, cette cyanobactérie resta une simple curiosité avant le 7ème congrès du pétrole en 1967 à Mexico, à l'occasion duquel des chercheurs de l'Institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur Arthrospira qui jusque là sont restés confidentiels. Ce fut l'origine de sa première exploitation industrielle, en 1976, par la société Sosa Tex coco basée au Mexique. Depuis, plusieurs entreprises se sont implantées un peu partout : Siam Aglaé Company à Bangkok en 1979, Earthrise farm aux

Etats-Unis en 1983 (le plus gros producteur actuel), Cyanotech Corporation à Hawaï, etc. En 1995, il existe une vingtaine d'exploitations industrielles dans le monde (Fox, 1999), et actuellement, leur nombre avoisine la trentaine. La première culture artisanale de *Arthrospira* méritant vraiment cette appellation revient sans doute à Fox Ripley qui fut le premier à lancer cette activité en Inde en 1973, en collaboration avec le Navsari Agricultural Collage .

Depuis, maints progrès ont été faits pour permettre et améliorer son exploitation dans toutes les régions du monde, à petite échelle (Fox, 1999).

### **I.3. Biotope et répartition géographique d'*Arthrospira platensis***

Elle se développe préférentiellement dans des eaux chaudes; alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés; mais elle peut aussi se développer dans les eaux saumâtres ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (Castenholz., *et al* 2001) ce qui limite sa zone de répartition à une bande intertropicale; située environ entre 35°C de latitude nord et 35°C de latitude sud.

**Tableau 01:** Distribution géographique naturelle d'*Arthrospira platensis*.

Continents	Pays
Afrique	Tchad ,région du Kanem ,Kenya, lacs natron ,Nakuru, Elmenteita.,Tanzanie ,lac Natron ,Soudan ,Djebel Marra ,Djibouti, Lac Abber , Ethiopie , Lacs Aranguadi , Rodolphe, Chili, Nakourou, Congo, Mougounga, Zambie, Lac Bangweulu, Algérie Tamanrasset, Tunisie, Lac de Tunis, Chott el Djérid, Madagascar, Tuléar.
Asie	Inde , Lac Nagpur , Madurai , Lac Lonar , Thailand , Radburi , Myanmar ,Lacs Taywn Taung ,Taywan Ma ,Pakistan , Lahore , Siri Lanka , Lac Beira , Chine ,Guang zhou , Dongguang Dong , Shenzhen , Azerbaïdjan , Woronichin.
Amérique du sud	Pérou , Lacs Huacachina , Orovilca , Paracas , Mexique , Lacs Texcoco , Cratère , Uruguay , Montevideo , Equateur , Lac Quillitoa.
Amérique Nord	Désert de Galifornie, Oakland, Del Mar Beach , Haïti, Lac Gonve , République Dominicaine , Lac Enriquillo.
Europe	France , Camargue , corse , Espagne , Baléares.

(vidalo, 2008)

## **I.4. Classification**

Selon (FOX, 1999), la spiruline est classifiée comme suit :

Règne : Monera.

Sous règne : Prokariota.

Phylum : Cyanophyta.

Classe : Cyanophyceae.

Ordre : Nostoc les.

Famille : Oscillatoriaceae .

Genre : Arthrospira.

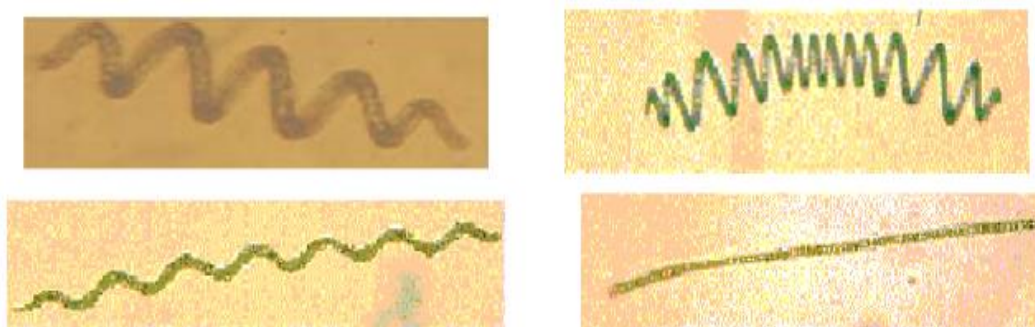
Espèce : *Spirulina platensis var toliarensis* .

Nom commun : Spiruline, Spirulina.

## **I.5. Morphologie**

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, généralement en 6 ou 7 spires, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline» (Geitler;1932 ; Jarisoa; 2005). On trouve cependant des Spirulines ondulées et parfois droites. 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 que la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice, (Muhling,et al 2003; Jarisoa; 2005). Les filaments d'Arthrospira sont motiles, se déplaçant souvent par des mouvements en vrilles à plus de 5µ par seconde, sa motilité lui sert à se protéger des expositions trop fortes au soleil (Fox, 1999). L'analyse des caractéristiques génétiques de l'espèce Arthaospira platensis, basées sur l'ARDA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) montre une grande plasticité morphologique (Tableau 02). Sachant que certaines souches initialement spiralées peuvent devenir ondulées ou droites (Cruchot, 2008), ceci est peut-être dû aux facteurs physicochimiques exogènes tels que la température, ou d'autres facteurs probablement liés aux changements génétiques (Belay, 2007). Les scientifiques étudiant la spiruline ont donc d'abord pensé qu'il existait de nombreuses espèces d'Arthrospira ; en fait, l'analyse de leurs caractéristiques génétiques, effectuées par Scheldeman et al en 1999, fait apparaître deux espèces presque identiques d'Arthrospira. Ils supposent alors que de ces deux espèces

(platensis et maxima) dérivent plusieurs souches. La question du nombre de variétés de spiruline fait encore débat entre les scientifiques. On distingue plusieurs morphologies "spirales", "ondulées", et "droites" (figure 01) : Règne Monère ou Bactérie Sous-règne Prokaryota Phylum ou Division Cyanophyta ou Cyanobacteria Classe Cyanophyceae Ordre Oscillatoriales Famille Oscillatoriaceae Genre Arthrospira Espèce Arthrospira platensis Etude Bibliographique 5 - les "spirales", désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (variété présente en Inde), - les "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (variété présente au Pérou), - les "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes telle le la variété M2 (Jarisoia, 2005).



Forme ondulée (type « Paracas »)

Forme droite (type « M2 »)

Figure 01 : Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoia, 2005).

Tableau 02 : Résumé de plusieurs descriptions morphologique d'Arthrospira platensis (Antenne Technologie).

Date	Lieu	Longueur des cellules $\mu$	Diamètre des cellules $\mu$	Diamètre des spires $\mu$	Distance entre spires $\mu$
1844	Uruguay	2-6	6-8	26-36	43-57
1893	Uruguay	2-6	6-8	26-36	43-57
1931	Kenya	3-10	6-11	36-60	15-45
1959	Uruguay	2-6	6-8	26-36	43-57
1967	Tchad	5	6-9	25-45	35-50

---

1980	Pérou	2.5	7.8	36	95
1984	Inde	4.5	12	99	55
1990	Mexique	3.2	12.45	52.3	52
1993	Pérou	2.4	9.5	33	43
1994	France (Camargue)	2.3	11.6	44	109
1994	Madagascar	3.8	7.2	12.2	32.5
1994	Californie	2.6	6.1	32	65
Moyennes		3.7	8.6	44	59.7

(König, 2007)

## **I.6. Reproduction**

Son mode de reproduction est la bipartition par scission simple. C'est une reproduction asexuée, par segmentation des filaments ; ce processus ne doit pas être confondu avec la mitose, laquelle n'existe que chez les eucaryotes (**CRUCHOT, 2008**).

Sa vitesse de multiplication est particulièrement rapide dès que la température dépasse 30°C à l'ombre ; lorsque ces conditions sont réunies et que le milieu est favorable, le temps de régénération est très court (7 heures) (**JOURDAN; 1996; Zarrouk; 1966**).

## **I.7. 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. Les Hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale (**Balloni., et al 1980**).

## **I.8. Production de la SPIRULINE**

En dehors de la ‘cueillette’ de la SPIRULINE issus des lacs où elle pousse naturellement, la SPIRULINE doit être produite si on veut couvrir la demande. Or, le seul moyen de la produire en grande quantité est la culture en bassin. En fonction de la surface totale d’exploitation des bassins et des moyens technologiques utilisées, on distingue la culture familiale, la culture industrielle et la culture artisanale et la production en containers (Jourdan, 2007).

## **I.9. Mouvement de la SPIRULINE**

La SPIRULINE est capable d’effectuer deux types de déplacement : la motilité et la flottabilité. Elle évolue dans l’eau en se vissant : ce déplacement s’effectue à la vitesse de 5  $\mu\text{m}$  par seconde. La SPIRULINE peut également fabriquer des vésicules de gaz environ 70 nm de long 10 nm de diamètre, elle se forme et se remplissent de gaz lorsque la lumière de soleil apparait. Au cours de la conférence alimentaire mondiale en 1974, la SPIRULINE a été déclarée la meilleure source alimentaire du futur » par l’Organisation des Nation Unies (ONU) ( Doumenge., *et al* 1993).

## **I.10. Culture**

### **I.10.1. Condition de culture**

Il existe trois facteurs essentiels déterminants pour la culture de la spiruline La température, la lumière et le pH.

#### **I.10.1.1.Température**

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l’homme, 37°C : température idéale pour pousser la vitesse de croissance de la spiruline (FALQUET, 1999).

Au-dessus de 43°C peut mortel, en dessous, la vitesse de multiplication baisse a 20°C la croissance est pratiquement stoppée la culture doit donc se situer entre ces deux température (JORDEN, 1999).

### I.10.1.2. Lumière

La lumière influent directement sur la croissance de la spiruline qui assuré par la photosynthèse ainsi que une forte intensité lumineuse peut conduire à la photolyse et pour l'éviter, il est convenable de vérifier deux conditions nécessaires (Fox, 1999) :

- Ensemencer le bassin avec une forte concentration afin que la lumière n'attient pas à la fond de bassin, et la mesure de la concentration et apporté par de disque Secchi
- Une agitation suffisante.

### I.10.1.3. pH

Pour aboutir à une bonne croissance de la spiruline, le milieu de culture doit présenter un degré d'alcalinité situé entre 9 et 11.

## I .10.2. Milieu de culture

Le milieu de culture composé à la fois l'eau salé et alcaline et contient des engrais l'azote (N), phosphore(p), potassium (K) sont les trois principaux éléments, vient ainsi le soufre et le fer et d'autre minéraux de traces.

**Tableau 03** : Analyse d'un milieu de culture typique (FOX, 1999).

Eléments	Concentration en mg /l
Bicarbonate	2800
Phosphate	614
Sulfate	25
Chloe	350
Sodium	3030
Potassium	4380
Magnesium	642
Calcium	10
Ammonium	5
Ammoniac	5
Fer	1

**I.10.2.1. Eau**

Les spirulines vivent dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (mais ne sentant pas fortement le chlore) ou au moins filtrée (sur bougie filtrante ou filtre à sable) et parfois stérilisée aux UV, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. L'eau de pluie, de source ou de forage est en général de qualité convenable. Si l'eau est dure, il se produira des boues minérales (plus ou moins abondantes selon la teneur en calcium, magnésium et fer), qui décantent rapidement et ne sont pas particulièrement gênantes pour la culture, à condition toutefois que l'ensemencement initial en spirulines soit assez concentré. Si l'eau est trop dure il vaut mieux la traiter pour éviter des boues gênantes. (JORDEN, 1999).

**I.10.2.2. Eléments nutritif**

L'eau utilisé peut apporter de façon naturelle les besoins de la spiruline pour se développer et limite ainsi la quantité d'intrants nécessaire à sa croissance. Le milieu de culture de la spiruline doit être apporté tous les éléments suivants (Jordan, 1999):

- bicarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ): est la source d'alcalinité, qui peut aussi être apporté par le natron ou l'eau de cendre.
- le phosphore (P): est indispensable pour la photosynthèse, apporté par n'importe quel Ortho phosphate soluble.
- l'azote (N) : est un constituant important des acides aminés, qui apporté principalement par l'azote atmosphérique, et aussi l'urée.
- le carbone(C) : c'est la nourriture principale de la spiruline, qui apporté principalement par le gaz carbonique, et aussi le sucre.
- les métaux : essentiellement le fer, le magnésium...

**I .10.2.3. Différents modes de production de spiruline**

En termes de production et de récolte, la Spiruline peut être obtenue de trois manières:

**1/ en milieu naturel** : dans les lacs ou étangs où elle se développe naturellement (Tchad, Mexique, Chine) et où elle est récoltée directement.

**2/ en milieu de culture artificiel** : pour une production artisanale. Les techniques de cultures sont simplifiées et demandent un minimum de formation. Ce type de culture peut être vulgarisée et mise à la portée de populations à faible revenu.

**3/ en milieu de culture synthétique** : contrôlé pour une production industrielle (USA, Inde, Chili, Thaïlande, Chine). La culture est alors réalisée dans des bassins de formes diverses, de grande surface (plusieurs hectares) agités mécaniquement. La Spiruline est séchée par atomisation. L'investissement est élevé mais les productions peuvent atteindre des centaines de tonnes.

## **I .11. Principales applications de la spiruline**

### **❖ En alimentation humaine**

Grace à son excellent profil nutritionnel, la spiruline peut générer plusieurs Performances.

En enrayant la malnutrition, elle est utilisée par des humanitaires et des médecins sous forme de poudre afin de la mélanger à des céréales ou à de l'eau, pour sauver des enfants atteints de malnutrition sévère. Elle se révèle plus efficace que les médicaments pour pallier toutes les carences et traiter les effets des maladies qui découlent de la famine comme le marasme ou la kwashiorkor (**Fox, 1999**).

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

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

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

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

❖ **En alimentation animale**

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

Couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou de convalescence.

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

❖ **En cosmétique.**

L'analyse quantitative et qualitative des éléments qui composent la spiruline furent formelles

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

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

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



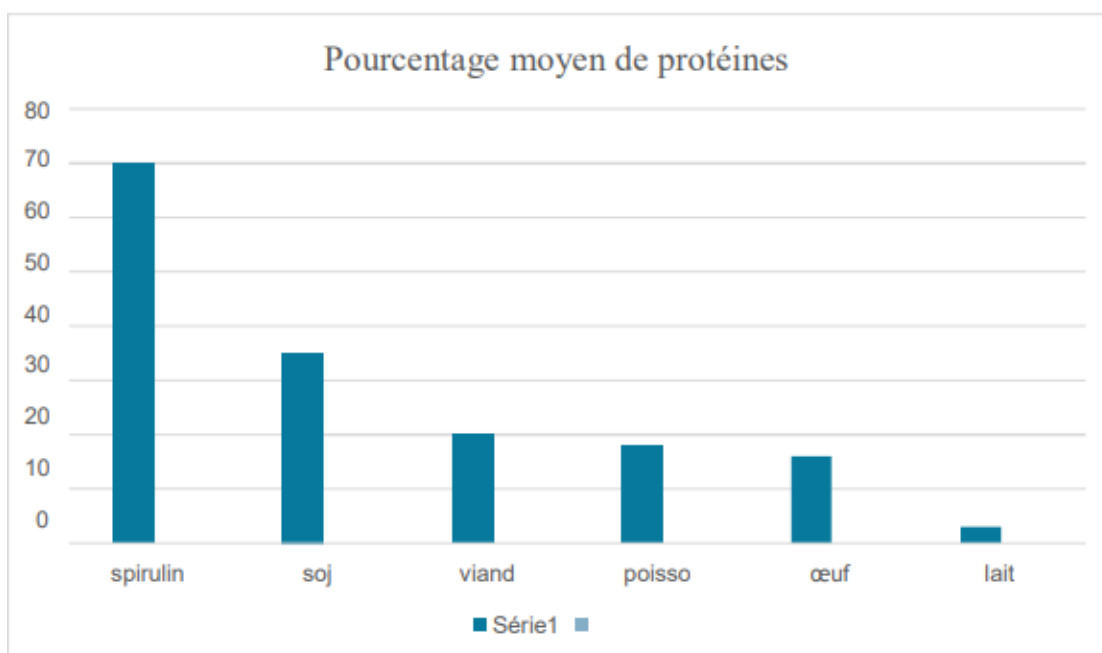
*Chapitre II*  
*Biochimie de la spiruline*

## **II.1. La composition chimique de la spiruline**

Notre corps est un organisme complexe, pour le maintenir en forme, nous devons lui fournir les éléments nutritifs, l'énergie et la vitalité dont il a besoin. Connu comme « l'aliment parfait de la nature », la spiruline est l'aliment nutritif le plus riche. Les méthodes d'investigation analytiques (spectroscopie, chromatographie, ...) ont permis d'identifier et de doser l'ensemble des constituants de la spiruline avec une grande précision. Sa composition varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi par le taux d'ensoleillement, et de ce fait certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras. 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-éléments (**All. et al 1999**).

### **II.1.1. Composition en protéines et acides aminés**

Indispensables à la vie, les protéines sont les molécules organiques les plus abondantes dans le corps humain. Elles sont retrouvées sous forme d'enzymes, d'hormones, d'anticorps, réparant les tissus, et essentiels à l'équilibre acido-basique. Vingt acides aminés sont à la base des protéines, le corps étant capable d'en fabriquer uniquement 12, les 8 autres sont considérés comme essentiels et doivent être apportés par l'alimentation. La spiruline contient ces 8 acides aminés essentiels en proportions intéressantes et directement assimilables. La teneur en protéines de la spiruline est élevée avec des variations de 10 à 15% selon le moment de la récolte. Plus la luminosité est élevée, plus le pourcentage en protéines est élevé. Elle représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche. Ce pourcentage est bien plus élevé que celui du poisson (25%), du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%), comme cela est montré dans la figure 6 (**All., et al 1999**).



**Figure 02** : Diagramme de positionnement de la spiruline par rapport à d'autres aliments en termes de protéines (ALL., *et al* 1999).

Par sa composition protéique, la spiruline est un aliment très riche. Ainsi, comme l'indique le tableau ci-dessus (Tableau 04), 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 04, montre la composition qualitative et quantitative moyenne en acides aminés de la spiruline.

**Tableau 04** : Composition en acide aminés de la spiruline (Hajati., *et al* 2019).

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 On peut noter que parmi ces acides aminés essentiels les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés : méthionine et cystéine (absente ici mais évoquée dans d'autres publications (**Campanella., et al 1999**)).

Concernant les protéines, l'Utilisation Protéique Nette est une notion importante. Ce microorganisme 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% (**Costa., et al 2002**). 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%) (**Delpuech ., et al 1975**).

## II.1. 2. Lipides

### II.1.2.1. Lipides totaux

En totalité ils représentent moins de 10% du poids sec (**Bujard., et al 1970**). Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%) contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (**Clément; 1975 ; Santillan; 1974**).

### II.1.2.2. Acides gras

L'acide  $\gamma$ - linoléique représente chez *Arthrospira platensis* 40%, soit environ 4% du poids sec de spiruline ; de ce fait, *Arthrospira* peut être considérée comme une des meilleures sources connues d'acide  $\gamma$  - linoléique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes (**Ciferri, 1983**). D'autres acides gras essentiels sont également présents, comme l'acide linoléique, 18:2 (12%). Notons aussi une forte proportion d'acide palmitique, 16:0, environ 25%. Quant aux sulfolipides tels que les sulfoquinovosyl-di glycérides (5% de la fraction saponifiable), ils suscitent actuellement de nouvelles recherches depuis qu'une activité protectrice contre l'infection des cellules par le VIH leur a été attribuée (**Gustafson, 1989**). A noter encore l'absence d'acides gras au nombre de carbone impair (**Clément, 1975**) et une très faible teneur en acides gras à chaînes ramifiées (**Bujard ., et al 1970**), deux types de lipides non métabolisables par les animaux supérieurs.

### II.1.3. Glucides

Les glucides représentent entre 15 et 25% de la matière sèche. Les glucides simples sont en très faible quantité (glucose, fructose et le saccharose), l'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que : glucosanes aminés (1.9% du poids sec) rhamnosanes aminés (9.7%) glycogène (0.5%) (**Quillet, 1975**). Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez *Arthrospira* est le méso- inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350- 850 mg/kg mat. sèche) (**Challem., et al ; 1981 ; Nippon., et al; 1977**) . Les polysaccharides présentent de multiples intérêts thérapeutiques, notamment dans la stimulation des mécanismes de réparation de l'ADN (**Pang., et al 1988**), dans son effet radio-protecteur et dans la neutralisation des radicaux libres (**Qishen., et al 1989**).

### II.1.4. Minéraux et oligo-éléments

La composition en minéraux de la Spiruline apparaît dans le tableau 05. 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 (**Falquait., et al 2006**).

**Tableau 05 :** Composition en minéraux de la spiruline en µg/g de sa matière sèche (Falquet., *et al* 2006).

Minéraux	Teneur de la spiruline sèche (mg/kg)	Doses (mg/jour)	requis*
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	

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

#### II.1.4.1.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 (**Campanella., et al 1999**). 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 05. Le fer est essentiel à l'organisme humain car il intervient dans la constitution de l'hémoglobine, de la myoglobine et d'enzymes jouant un rôle capital dans de nombreuses réactions métaboliques (**Johnson., et al 1986; Kapoor., et al 1993**).

**II.1.4.2.Zinc**

Le Zinc est considéré comme un micronutriment majeur dans la lutte contre la malnutrition (**Gibson, 2005**). Des carences en zinc sont fréquemment associées à des diarrhées, à l'anorexie, à des problèmes cutanés, ou à l'infection au VIH (**Melchior., et al 1997**). 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. Cependant la Spiruline peut être enrichie (**Cogne., et al 2002**). Une Spiruline de Biorigin l'Azina titrerait 6000 µg Zn/g (**Falquet., et al 2006**).

**II.1.4.3.Magnésium**

Le Magnésium est un élément important pour la santé et une carence est fréquente chez les enfants malnutris (**Briend, 1998**). La Spiruline est naturellement riche en Mg.ont montré par des études sur des cellules intestinales Caco-2 qu'un enrichissement en Mg n'améliorait pas la disponibilité en magnésium (**Planes., et al 2002**).

**II.1.4.4.Sélénium**

Le sélénium est un micro élément essentiel a effet antioxydant. 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 (**Chen., et al 2014**). Montré la biodisponibilité par les rats du sélénium à partir de Spiruline fortifiée (**Cases. et al; 1999; Cases et al. 2001**).

**II.1.4.5.L'iode**

La carence en iode est la première cause de maladie mentale évitable (**Tetzel. et al 1997**). Il est possible d'obtenir des souches de spiruline capables de fixer l'iode (**Mazo. 2004**) 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 (**Lisons., et al 2001**).

**II.1.5. 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 (Sall., *et al* 1999). La chlorophylle est présente en proportion de 9-15 g/kg (Australian, 2006). 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 photodestruction, 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  $\beta$ -carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine. Les teneurs en pigments de *Spirulina platensis* apparaissent dans le tableau 06.

**Tableau 06:** Teneurs en pigments exprimés en en mg pour 10g de matière sèche de *Spirulina platensis*.

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

(Reuters, 2006)

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'éclairement. Le tableau 06 montre que la cyanobactérie *Spirulina platensis* est une excellente source de phycocyanine.

D'après **Vonshak(1997)**. 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 antioxydants comme le  $\beta$ -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 (**Fedkovic., et al 1993**). Le  $\beta$ - carotène est d'autre part un précurseur de la vitamine A.

Ci-après, nous allons voir des tableaux récapitulatifs (Tableaux 07, 08, 09 et 10) de la composition nutritionnelle de la spiruline et rôle de chaque composant.

**Tableau 07:** Composition nutritionnelle de la spiruline et rôle de chaque composant (**Goulamabasse, 2018**).

COMPOSITION NUTRITIONNELLE	COMPOSITION POUR 10G
Protéines (végétales)	55 à 70 %
Glucides	15 à 25 %
Lipides	4 à 7 %
Minéraux	7 à 13 %
Fibres	2 à 8 %

Valeur énergétique : 38 kcal/10g

**Tableau 08:** Composition en vitamines et rôle de chaque composant (Goulamabasse, 2018).

VITAMINES	COMPOSITION POUR 10 G	% AJR
A	14 mg	1000 %
E	1 mg	10%
B 1	0,35 mg	30%
B 2	0,4 mg	30%
B 3	1,4 mg	9%
B 5	0,01 mg	0,20 %
B 6	0,01 mg	4%
B 8	0,005 mg	0,50 %
B 9	0,01 mg	2,50 %
B 12	0,032 mg	1000 %
I	6,4 mg	-
K	0.224 mg	300 - 500%

**Tableau 09:** Composition en minéraux et rôle de chaque composant (Goulamabasse, 2018).

MINERAU X	COMPOSITION	AR J %
	POUR	
	10 G	
Calcium	100 mg	10 %
Fer	18 mg	100 %
Magnésium	40 mg	20 %
Phosphore	80 mg	8%
Potassium	140 mg	5%
Zinc	0,3 mg	3%
Cuivre	0,12 mg	5%
Manganèse	0.5 mg	17 %
Sodium	0.09 mg	-
Chrome	0.028 mg	16 %
Sélénium	0.002 mg	2%

**Tableau 10:** Composition en acides aminés essentiels et rôle de chaque constituant (Goulamabasse, 2018).

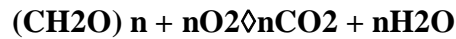
ACIDES AMINES ESSENTIELS	COMPOSITION POUR 10G	% AJR
Isoleucine	350 mg	50%
Leucine	540 mg	49%
Lysine	290 mg	36%
Méthionine	140 mg	70%
Phénylalanine	280 mg	140 %
Thréonine	320 mg	64 %
Tryptophane	90 mg	36 %
Valine	400 mg	50 %

### II.1.6. Photosynthèse des microalgues

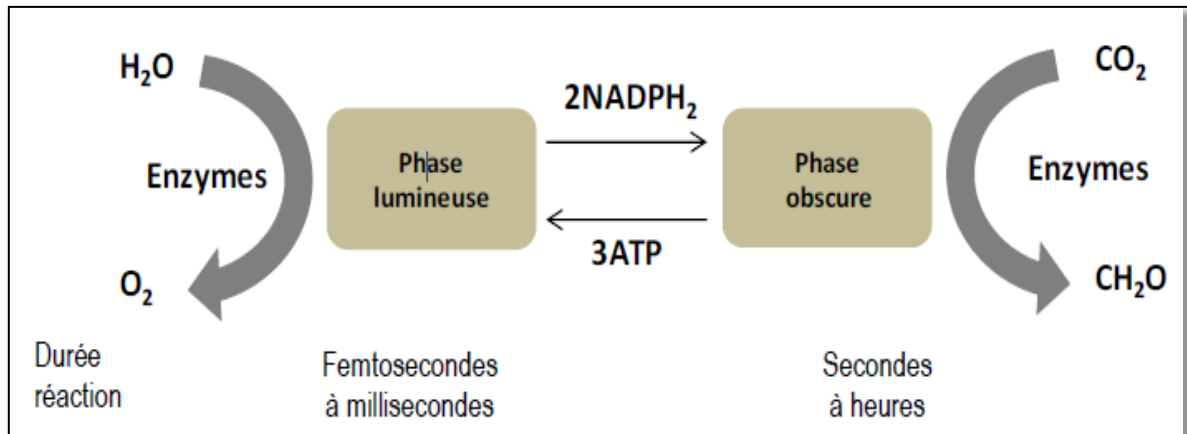
Les microalgues eucaryotes et procaryotes sont impliquées dans la régulation cellulaire de la photosynthèse oxygénique. Dans les chloroplastes, le carbone inorganique est converti en énergie chimique en captant l'énergie lumineuse. La surface d'une cellule de microalgue va de quelques microns à plusieurs centaines de microns. Où la membrane plasmique sépare le cytoplasme du milieu extérieur, Certaines espèces ont des structures de paroi complexes qui empêchent l'apparition de .cette membrane

La majeure partie de la structure de la paroi des microalgues est très similaire à celle des structures de la paroi des plantes supérieures qui contiennent des protéines complexes et des polysaccharides, car elle joue un rôle dans la résistance à la dégradation enzymatique par les bactéries ainsi que dans leur protection contre les conditions environnementales potentiellement nocives.

Comme mentionné précédemment, la réaction de photosynthèse des chloroplastes se produit, C'est par une réaction d'oxydo-réduction qui est catalysée par l'énergie lumineuse pour convertir l'eau et le dioxyde de carbone en oxygène et en sucres simples.



Cette réaction globale se réalise en deux étapes (phase lumineuse et phase obscure) séparées dans l'espace et dans le temps (Figure 02).



**Figure 03:** Phases lumineuse et obscure de la réaction de photosynthèse.

### Phase lumineuse

Il se produit dans la membrane chloroplastique et est une réaction rapide. Il permet la production d'ATP et NADPH<sub>2</sub> en convertissant l'énergie lumineuse en énergie chimique, et cette dernière réaction est particulièrement rapide.

### Phase « obscure » ou sombre

C'est une réaction plus lente que l'étape précédente et localisée dans le stroma (Figure 2). Les produits de la phase nette participeront à la réduction du CO<sub>2</sub> en glucides. (Bruno., *et al* 2015).

## II.2. Composés bioactifs de la spiruline

### II.2.1. Définition des composés bioactifs

Les **composés bioactifs** sont des composés chimiques naturels contenus dans un végétal, un animal ou une source marine ou dérivés de ceux-ci et qui apportent des avantages en matière de santé et de bien-être (ex: oméga-3 des huiles de poisson et bêta-glucanes dérivés de l'avoine et de l'orge).

Ces dernières années, plus de 15 000 nouveaux composés biochimiques ont été découverts dans les micro algues. Ces composés, qui révèlent des structures et fonctions particulières, font partie de familles de molécules connues comme les vitamines, les acides gras (oméga 3), les pigments, les antioxydants et les stérols (**Microphit, 2016**). Voici quelques particularités inhérentes à ces microalgues:

- Les microalgues sont les producteurs primaires d'huiles de qualités supérieures telles que les acides gras oméga-3 et oméga-6. Certaines espèces sont notamment connues pour produire des volumes élevés d'acide docosahexaénoïque (DHA) et d'acide eicosapentaénoïque (EPA) (**Kent., et al 2015**).
- Les microalgues produisent des niveaux élevés de caroténoïdes. Il s'agit d'un groupe de plus de 600 molécules, qui offre un fort potentiel antioxydant et de nombreux bénéfices fonctionnels pour les industriels de la cosmétique, de l'alimentation et de la santé.
- Les microalgues sont également source de phycobiliprotéines.

### II.2.2. Phycobiliprotéines

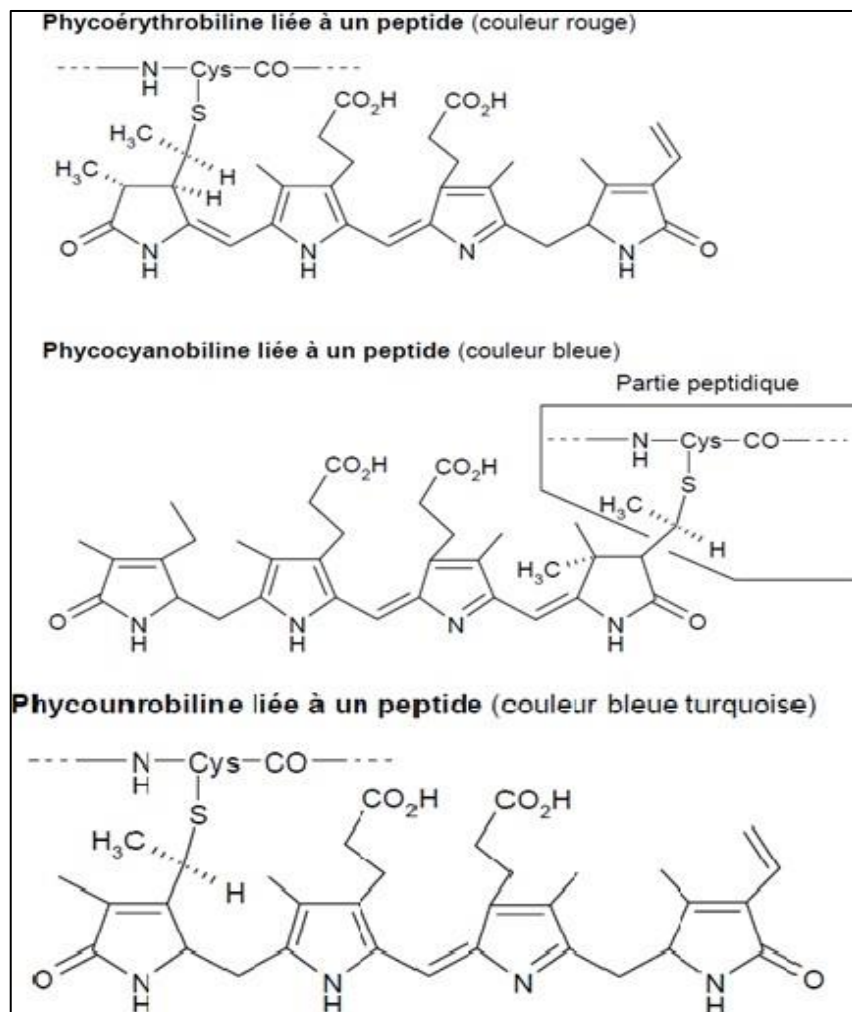
L'absorption des radiations visibles photosynthétiquement est importante chez les Cyanobactéries, entre 500 et 650 nm, dans une zone où l'absorption liée aux pigments chlorophylliens et caroténoïdes est faible. Cette capacité est liée à la présence de phycobiliprotéines, pigments protéiques hydrosolubles pouvant constituer jusqu'à 60 % de la masse des protéines cellulaires totales (**Thomas, 1989**).

Les méthodes biochimiques classiques (chromatographiques) ont été largement utilisées pour obtenir la purification exhaustive des principales phycobiliprotéines. Les résultats ont montré l'existence de deux espèces pigmentaires bleues différentes (allophycocyanine absorption maximum à 650 nm et phycocyanine à 620 nm), sont synthétisées par chaque espèce de Cyanobactérie ou de Rhodophycée. En revanche, la présence d'un pigment "rouge" (phycoérythrine -  $A_{max} = 565$  nm, ou phycoérythrocyanine -  $A_{max} = 568$  nm) n'est pas constante, la synthèse pouvant n'être jamais observée, ou alors seulement lorsque les souches sont soumises à une certaine qualité d'éclaircements, phénomène d'adaptation chromatique complémentaire, est fonction des propriétés physiologiques

exclusives des souches Cyanobactériennes (**Bogorad, 1975**).

Les phycobiliprotéines sont des molécules hydrosolubles comportant une partie protéique liée de façon covalente (liaison thioether) à des chromophores ou bilines. Ces derniers sont composés de groupes tétra pyrroliques non cyclisés.

On connaît quatre types de chromophores dans les biliprotéines des Cyanobactéries et de Rhodophycées : un chromophore bleu (phycocyanobiline - maximum d'absorption dans le spectre visible à 660 nm), deux chromophores rouges (phycoérythrobiline, à 550 nm, et cryptovioline ; à 590 nm), ainsi qu'un chromophore orangé (phycourobiline - maximum d'absorption à 495 nm) (**Ruiz, 2005**). Ces propriétés spectrales sont celles obtenues après clivage chimique de la liaison covalente thioether existant entre le chromophore et la chaîne polypeptidique, ou bien en présence d'urée 8 M à pH acide, condition, totalement dénaturante, dans laquelle les interactions non covalentes chromophore-protéine sont abolies (**Thomas, 1989**). La structure chimique précise de ces bilines est présentée dans les Figure 03 et 04 .



**Figure 04:** Structure des phycobilines (Chromophores) (**Ruiz, 2005**).

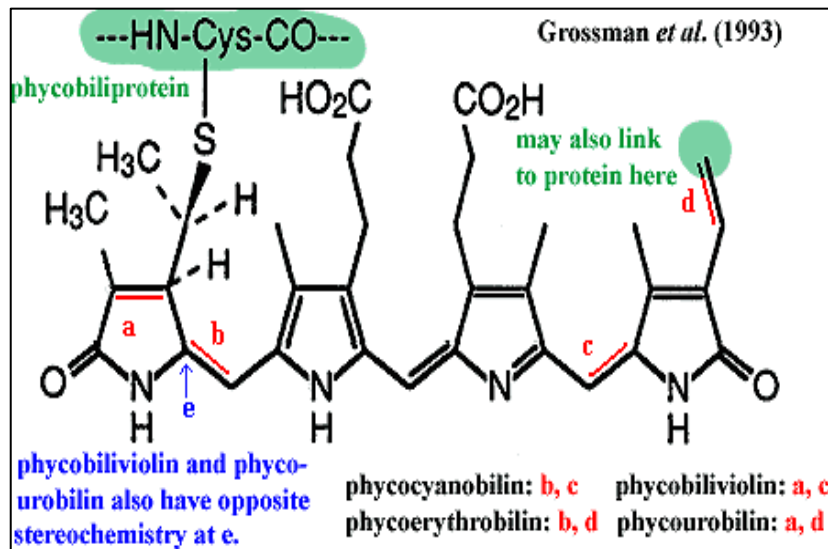


Figure 05: Différence entre les phycobilines.

### II.2.3. Phycobilisomes

Les phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) localisées à la surface des thylakoïdes sont assemblées de façon superposée dans une même unité appelée phycobilisomes (Figure 05). L'assemblage de façon géométrique des pigments est fait de manière à optimiser la capture de lumière et le transfert d'énergie (Patil., *et al* 2007). Toutes les phycobiliprotéines absorbent directement la lumière incidente, mais elles participent également à une chaîne de transfert d'énergie dans le phycobilisome (le transfert d'énergie provient de la phycoérythrine → phycocyanine → allophycocyanine → chlorophylle ) (Manirafasha., *et al* 2016). Le phycobilisome est le complexe majeur, collecteur d'énergie lumineuse de l'appareil photosynthétique présent chez les Cyanobacteries.

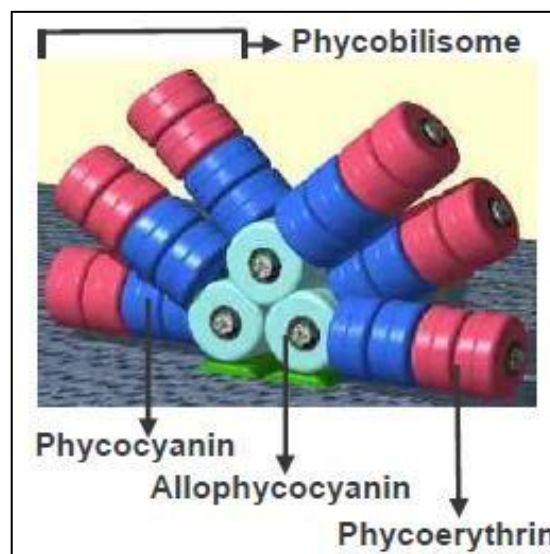


Figure 06 : Structure des phycobilisomes (Patil., *et al* 2007).

## **II.2.4. Phycocyanine**

La spiruline est une source considérable de pigments naturels, principalement la phycocyanine et l'allophycocyanine avec un rapport de 10 :1 (**Campanella., et al 2000**). Le groupe prosthétique de C-PC et APC est appelé phycocyanobiline (PCB) ou chromophore.

En solution, la phycocyanine se présente sous la forme d'un mélange complexe de monomères, de trimères, d'hexamères et d'autres oligomères. Sa masse moléculaire est comprise entre 44 et 260 kDa (**Cuellar., et al 2015**).

La phycocyanine est habituellement composée de 2 sous-unités protéiques ou apoprotéines (sous-unité  $\alpha$  : 20,5 kDa- sous-unité  $\beta$ : 23,5 kDa), et d'un chromophore (molécules de phycocyanobiline constituées du groupe bilin = groupe prosthétique). Ce dernier est constitué du noyau tétra pyrrolique de la chlorophylle, ouvert et sans magnésium. Les molécules de PCB sont reliées à l'apoprotéine par des ponts thioether avec un résidu cystéine. Le monomère  $\alpha\beta$  n'est pas la forme stable, ni in vivo, ni dans les conditions habituelles d'extraction. Selon le type de phycobiliprotéine, c'est l'état trimérique ( $\alpha\beta_3$ ), ou hexamérique ( $\alpha\beta_6$ ) qui est l'agrégat oligomérique stable. Les propriétés spectrales (absorption, fluorescence) sont liées à la composition chromophorique, aux interactions chromophore-chaînes polypeptidiques, mais aussi aux interactions entre les polypeptides d'un monomère, entre monomères d'un agrégat oligomérique (**Thomas; 1989; Anamika., et al 2005**).

La séquence complète en acides aminés a été déterminée pour les sous-unités ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) de l'allophycocyanine et de la phycocyanine des Cyanobactéries. Ces données sont à relier aux études immunologiques antérieures, qui montraient l'absence de réactions croisées entre phycocyanine et allophycocyanine, bien que ces molécules renferment le même chromophore phycocyanobiline (**Thomas, 1989**).

La mesure de ces phycobiliprotéines par spectrophotométrie a été évaluée par différents auteurs (**Anamika., et al 2005; Chaiklahan ., et al 2012**).

## **II.2.5. Purification et stabilité de la phycocyanine**

### **II.2.5.1. Purification**

Les phycobiliprotéines purifiées sont nécessaires pour les activités potentielles, ainsi que pour les applications industrielles, biomédicales et pharmaceutiques. Une séquence d'étapes comprenant la précipitation, la dialyse, des colonnes de chromatographie ont été couramment appliquées par les chercheurs mais elles présentent certains inconvénients, notamment un coût élevé, un traitement de longue durée, un faible rendement et un durcissement (**Goja., et al 2013**).

La pureté de la C-PC est généralement évaluée par un rapport d'absorbance (Equation 1.2):

$$\text{Pureté} = A_{620} / A_{280} \quad (\text{Equation 1.2})$$

Où :

$A_{620}$  représente le pic d'absorbance de la C-PC,

$A_{280}$  est l'absorbance de protéines riches en acides aminés aromatiques (indique la présence d'une contamination)

Plus l'absorbance des contaminants est élevée plus la pureté diminue.

Au cours de la purification de la C-PC, cette molécule doit être séparée de l'APC. Le facteur de séparation (FS) est mesuré par le rapport d'absorbance (Equation 1.3):

$$FS = A_{620} / A_{652} \quad (\text{Equation 1.3})$$

Où

$A_{652}$  représente le pic d'absorbance de l'APC.

Plus  $A_{652}$  est élevée plus le FS est faible ce qui se traduit par une faible pureté de la C-PC.

Selon la pureté (Rito., *et al* 2001) a classé la C-PC en trois catégories. Pour une pureté égale à 0, 7, la C-PC est de qualité alimentaire. 3,9, la qualité est réactive, tandis que 4 la qualité est analytique. Les fractions qui manifestent une pureté supérieure à 4 sont considérées comme très pures (Boussiba. *et al* 1979).

Beaucoup de travaux ont été réalisés sur la purification de la C-PC de la spiruline, dans le but de trouver la méthode la plus fiable.

Nous retiendrons que (Minkova. *et al* 2003) ont purifié l'extrait brut de C-PC par un traitement à plusieurs étapes : du rivanol (avec un rapport 10 :1), suivi d'une saturation à 40% du sulfate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), puis élimination du rivanol par filtration sur du Sephadex G-25. Enfin, ils effectuent une dernière saturation à 70% du sulfate d'ammonium.

Une nouvelle approche, pour la purification de la C-phycocyanine (C-PC), plus simple et plus efficace que les méthodes existantes a été faite par (Patil., *et al* 2007). Cette méthode comporte deux étapes: l'extraction aqueuse à deux phases et la chromatographie d'échange d'ions. (Silva., *et al* 2009) ont utilisé un plan expérimental pour l'optimisation de la purification. L'effet de la concentration en sulfate d'ammonium, du volume et du pH de la suspension a été évalué. Chen *et al.*, (2014) ont purifié l'extrait brut de C-PC en ajoutant différentes concentrations de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (40, 35,30%), suivie d'une dialyse et d'une chromatographie.

Selon (Chaiklahan., *et al* 2012), la pureté de la C-PC joue un rôle significatif dans les

applications commerciales et médicinales. Ces dernières années, de nouvelles techniques de purification telles que l'ultrafiltration, le procédé d'extraction en deux phases, la chromatographie échangeuse d'ions ont été utilisées. Si ces nouvelles méthodes présentent plus d'avantages que les procédés traditionnels, elles ont encore de nombreux obstacles à surmonter (**Goja., et al 2013**).

### II.2.5.2. Stabilité

La phycocyanine a un grand pouvoir de piégeage des radicaux libres. Par conséquent, l'utilisation thérapeutique de cette molécule semble prometteuse puisque de nombreuses maladies sont liées à une formation excessive de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO), en anglais ROS (réactive oxygène species), (**Romay., et al 2003**). Cependant, l'utilisation de C-PC dans les aliments et dans d'autres applications est limitée en raison de sa sensibilité au traitement thermique, ce qui entraîne une précipitation et une décoloration de la couleur bleue. L'azotate de sodium et le dithiothreitol sont couramment utilisés comme conservateurs pour la phycocyanine à des fins analytiques, mais ils sont toxiques et ne peuvent donc pas être utilisés pour la production de phycocyanine de qualité alimentaire. En revanche, les sucres et les alcools polyhydriques (sans danger pour la consommation) ont été utilisés pour stabiliser les protéines (**Cuellar., et al 2015**).

Du fait que la phycocyanine sous forme aqueuse se dégrade rapidement en cas de contamination bactérienne. Elle doit donc être conservée sous forme stérile ou au froid (congélation), ce qui entraîne des surcoûts importants. Toutefois, il est connu qu'en milieu aqueux, la stérilisation par la chaleur ou les ultraviolets dégrade la molécule de phycocyanine qui perd toute son efficacité après ouverture du conditionnement, impliquant de ce fait un conditionnement en mono dose (**Pottecher, 2014**).

Les conservateurs chimiques présentent une toxicité qui les rend incompatibles pour un usage alimentaire. Seuls des essais avec des huiles essentielles, ont donné des résultats acceptables. L'huile essentielle de Ravintsara (*Cinnomomum camphora*) retarde le développement bactérien tout en restant compatible avec un usage alimentaire, mais ce traitement ne convient que pour une préservation à court terme de la phycocyanine car les développements bactériens sont freinés mais pas annihilés. Il n'est pas possible non plus d'acidifier fortement le milieu pour empêcher le développement de bactéries car la phycocyanine est très sensible au pH et toute variation importante entraîne une précipitation des molécules. La phycocyanine devient instable et précipite en dessous de pH 5 et au-delà de pH7, 5 (**Pottecher, 2014**).

La congélation est une solution simple à mettre en œuvre, mais elle rend le transport très compliqué et très coûteux en raison de la nécessité de préserver la chaîne du froid.

L'alcool (éthanol) à forte concentration permet de stabiliser la phycocyanine, mais

altère une grande partie de ses propriétés antioxydants. De plus, l'alcool est problématique en raison des multiples interdictions religieuses auquel il est soumis (Pottecher, 2014).

### II.2.6. Activités thérapeutiques de la phycocyanine

La littérature a montré que la phycocyanine joue un rôle bénéfique pour la santé humaine grâce à ses propriétés pharmacologiques et biologiques potentielles. Nous avons tenté de regrouper, une partie des travaux les plus récents dans le tableau (11).

Illustrés dans des crèmes de beauté en jouant un rôle dans la stimulation de la synthèse de collagène, ces pigments peuvent avoir des applications dans l'industrie cosmétique (Christaki, *et al* 2016). Au repos, la phycocyanine a une couleur bleue et est pourvue d'une fluorescence rouge. Elle présente une absorption maximum à 620 nm et une radiation d'émission à 635 nm. Cette qualité en fait un produit fluorescent naturel qui est un marqueur de choix dans les diagnostics biomédicaux (Pottecher, 2014).

**Tableau 11:** Propriétés pharmacologiques et biologiques des phycocyanines.

Espèce de micro algue étudiée	Propriété physiologique	Références
<i>Spirulina platensis</i> <i>Aphanizomenon flos aquae</i>	Anti oxydante	(Romay., <i>et al</i> 2003 ; Guan., <i>et al</i> 2009 ; Shalaby et Shanab, 2013; Chen <i>et al.</i> , 2014
<i>Spirulina platensis</i> ; <i>Arthrospira maxima</i>	Anti inflammatoire	Romay <i>et al</i> 2003 ; González, <i>et al.</i> , 1999 ; Chen <i>et al.</i> 2014
<i>Spirulina platensis</i>	Neuroprotective	Romay <i>et al.</i> , 2003 ; Penton - Rolet 2011
<i>Spirulina platensis</i>	Néphroprotectrice	Rodriguez-Sanchez <i>et al.</i> , 2012, Rodríguez-Salgueiro <i>et al.</i> , 2017
<i>Arthonema africanum</i> ( <i>Cyanophyceae</i> )	Anti tumorale, Anti cancer	Gardeva <i>et al.</i> , 2014
<i>Spirulina platensis</i>	Anti radicalaire	Bhat et Madyastha, 2000; Shalaby <i>et</i>

		<b>Shanab, 2013</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Anti cataractogène	<b>Kumari et al. 2013</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Anti diabétique	<b>Ou et al. 2013</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Immunomodulatrice	<b>Chen et al., 2014</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Cicatrisante des plaies	<b>Gur et al., 2013</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Atheroprotective	<b>Strasky et al. 2013</b>
<i>Spirulina</i>	Hepatoprotective	<b>Romay et al 2003</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Anti hyperalgique	<b>Shih et al., 2009</b>
<i>Spirulina platensis</i> ( <i>Arthrospira</i> )	Antivirale	<b>Ayehunie et al., 1998; Shalaby et al., 2010; Murugan, 2011</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Antifongique	<b>Murugan, 2011</b>
<i>Spirulina platensis</i>	Cosmétique	<b>Christaki et al., 2016</b>

### II.2.7. Intérêt de l'extraction de la phycocyanine

La phycocyanine est une molécule de grand intérêt notamment en raison de ses propriétés bénéfiques pour la santé humaine (Tableau 1.3). Elle est consommée notamment pour ses propriétés anti oxydantes et aussi pour sa capacité à favoriser la production de cellules souches (**Pottecher, 2014**).

La forte teneur de ce pigment a un grand intérêt dans l'industrie pharmaceutique. La production de la C-PC dépend de plusieurs paramètres à savoir : la souche de spiruline, l'intensité de l'éclairage, la composition du milieu de culture...etc. Selon (**Walter., et al 2011**) l'utilisation d'une lumière rouge pour l'éclairage de la culture à la place d'une lumière ordinaire augmente la teneur et la pureté de C-PC. Il existe des spirulines de haute qualité particulièrement riche en phycocyanine (environ 20 % du poids sec au lieu de 10 à 11 % qui représente la teneur minimale dans la spiruline de base) (**Jourdan, 2011**).

Cependant, il s'agit d'une molécule coûteuse et compliquée à extraire. Après extraction et en cas de contamination bactérienne, cette molécule se dégrade très rapidement, ce qui surenchérit les coûts. Sous forme liquide, dans l'eau, cette molécule doit être extraite dans des conditions stériles et de préférence conditionnée en mono-doses (par exemple des ampoules en verre) car après ouverture le milieu n'est plus stérile et la phycocyanine est détruite (**Pottecher; 2014; Cuellar ., et al 2015**)

Ainsi, le développement de méthodes de bio-séparation efficaces, respectueuses de l'environnement et économiques à grande échelle, est souhaitable tout en préservant les propriétés de la phycobiliprotéine. Bien ajustées, ces méthodes doivent assurer un rendement, une qualité et une pureté élevés.



*Chapitre III*

*Les activités thérapeutiques  
de la spiruline*

### III.1. 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. (Qureshi., et al 1995).

#### III.1.1. Activité antibactérienne

Certaines études préliminaires in vitro d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (*E. coli* et *S. aureus*) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace (Qureshi., et al 1995). Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques (Al-ghanayem, 2017). Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance anti-bactérienne particulière mais un spectre d'action qui serait un support pour démontrer le potentiel de cette activité sur quelques germes pathogènes (Kaushik., et al 2008)

#### III.1.2. Activité antioxydant

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 (où de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif (Goulambasse, 2018).

#### III.1.3. Activité antivirale

La richesse de la spiruline en  $\beta$ -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps 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 (**Andreani, 2011**). L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité *in vitro* des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-1 (**Youghare, 2007**). Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer (**Andreani, 2011**).

#### **III.1.4. Activité anticancéreuse**

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

#### **III.1.5. 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 (**La spiruline et le cholestérol, 2018**).

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 (**L'acide gamma linoléique, 2018**).

### **III.1.6. Autres effets**

D'innombrables autres effets bénéfiques sont également rapportés pour la spiruline. D'après Takai 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 (**Takai, et al 1991**). De plus, (**Iwata., et al. 1990**) ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats, suite à un apport de spiruline (**Iwata., et al 1990**). Et enfin, Cheng-Wu Z et al., ont observé que la phycocyanine et les polysaccharides de la spiruline possédaient une activité érythropoïétique (**Belay, 2002**).



*Partie pratique*



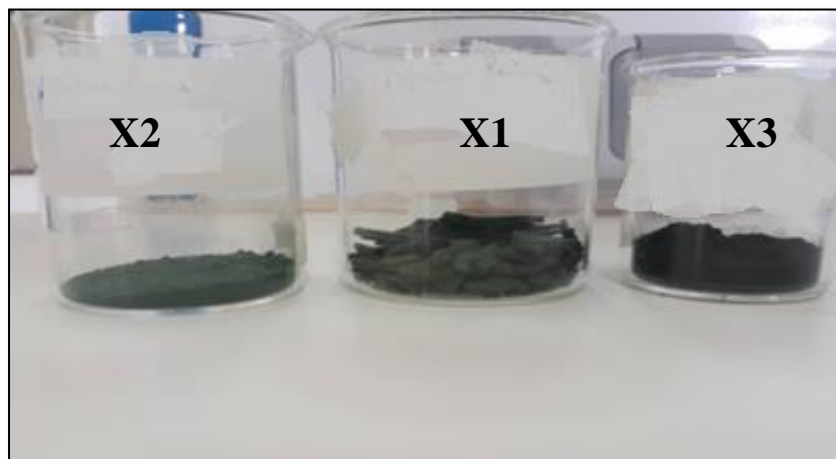
*Chapitre I*

*Matériel et méthode*

## **I.1. Matériel**

### **I.1.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est la souche *Arthrospira platensis*. Cultivé dans trois (03) régions différentes X1, X2 et X3.



**Figure 07:** Les trois échantillon de spiruline X1, X2 et X3.

### **I.1.2. Matériel expérimental**

Il s'agit tout matériel, autre que biologique englobant la verrerie, l'appareillage et le réactif chimique et organiques utilisés dans l'étude expérimentale.

- Les verreries.
- Centrifugeuse.
- Balance de précision.
- Balance analytique.
- Spectrophotomètre.
- Etuve.
- Bain marie.
- Ultrason.
- Agitateur.

## **I.2. Méthodes**

### **I.2.1. Extraction**

#### **I.2.1.1. Phycocyanine**

Dans notre étude, nous avons concentrés sur l'extraction de la phycocyanine, on utilisant cinq (05) méthodes d'extraction différentes.

L'extraction de la phycocyanine dépend à la différence de concentration et de degré de pureté à l'aide de plusieurs méthodes.

Nous avons suivi le même protocole pour les (03) trois échantillon de la spiruline X1,X2 et X3.

### I.2.1.1.1. Extraction par l'eau

#### \* Principe

L'éclatement dans cette méthode c'est effectuée à l'aide de différente concentration autour de la paroi cellulaire.

#### \*Mode opératoire

- Une suspension de 4 % de spiruline dans l'eau a été préparée à l'obscurité.
- La solution obtenue, subit une décantation puis une centrifugation (3000 tours/45mn) à 4°C.
- On prélève alors le surnageant lequel subit une dilution (facteur 100) avec de l'eau.

#### \* Expression des résultats

On a mesuré ensuite la densité optique de la solution à 615 nm, 652 nm, 620 nm, 280 nm et 562nm. Le calcul du taux (%) en phycocyanine est effectué selon la formule de (M'Baye., *et al* 2011).

$$\% \text{ en phycocyanine} : 1,873 (\text{Abs}_{620} - 0,474 \times \text{Abs}_{652}) * f/C$$

Avec :

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

F : le facteur de dilution en volume. (M'Baye., *et al* 2011).

### I.2.1.1.2. Extraction par sonification

#### \* Principe

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

#### \*Mode opératoire

- On met 10 mg de spiruline en suspension dans 100 ml de tampon phosphaté.
- la solution est mise sous l'action de l'ultrason E 3010 NA pendant 5 min.
- Centrifugation (3000tours/45min à 4°C).
- On prélève le surnageant et on ajoute de nouveau au culot 100 ml de tampon.
- On le remet à l'action de l'ultrason pendant 2 à 3 min.
- Puis centrifugation afin de prélever de nouveau le surnageant.

#### \* Expression des résultats

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

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

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

Avec :

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

### I.2.1.1.3. Extraction par congélation

#### \* Principe

Des cycles de congélation permettent de détruire la membrane plasmiques des cellules surtout lorsqu'il s'agit d'une protéine ou d'une enzyme bactérienne .durant la congélation des cristaux de glace se forment, ce qui provoque la désintégration de la membrane cellulaire.

#### \*Mode opératoire

- On met 100 mg d'algues secs dans 200 ml de tampon.
- La solution subit des cycles de congélation/décongélation (congélation à -20°C) jusqu'à l'éclatement des cellules.
- La solution obtenue subit une première centrifugation.
- Au surnageant, on ajoute 20% de sulfate d'ammonium saturé ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>),
- On le laisse reposer pendant 2 heures.
- Après une deuxième centrifugation, on ajoute au surnageant obtenu 45% de sulfate d'ammonium saturé.

#### \* Expression des résultats

Enfin une troisième centrifugation est effectuée directement et le culot est récupéré. Des lectures de spectrophotométrie sont effectuées à des absorbances de 615nm, 620nm, 652nm et 280nm.

$$PC \text{ (mg/ml)} = (Abs_{615} - 0,474 \times Abs_{652}) / 5,34$$

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

Avec :

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine.

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

#### I.2.1.1.4. Extraction par solvant

##### \* Principe

L'éclatement dans cette méthode par solubilisations du phospholipide de la membrane plasmique.

##### \* Mode opératoire

- On verse 4 g de spiruline dans 120 ml de tampon phosphate.
- Au début on l'incube à l'obscurité à 4 °C pendant 12h (pour permettre la lyse des cellules à l'hypotonie de mise).
- Puis centrifuger pour la première fois et récupérer le surnageant bleu.
- On ajoute 120 ml du tampon phosphate au précipité et incubé 12h à l'obscurité.

##### \* Expression des résultats

Après la deuxième centrifugation, les deux surnageants sont mélangés afin de lire l'absorbance à 615, 652, 620 et 280 nm. Le calcul du % en phycocyanine est basé sur de l'équation de (Chen., *et al* 2006).

$$PC \text{ (mg/ml)} = (\text{Abs}_{615} - 0,474 \times \text{Ab}_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule :  $\text{Ab}_{620} / \text{Ab}_{280}$  (Bennett., *et al* 1973).

Avec :

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine.

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

#### I.2.1.1.5. Extraction par macération dans le glycérol

##### \* Principe

Une séparation selon le diamètre des particules solides de différentes tailles, qui sont dispersées dans un liquide. La différence de pression force le liquide à passer à travers le filtre alors que les particules solides restent à la surface.

##### \* Mode opératoire

En s'inspirant des travaux de (Potcher, 2014).

- On a mélangé 800 g de poudre de spiruline dans un volume de 60 /40 eau/glycérol.
- On laisse macérer pendant 15 j à température ambiante à l'obscurité.
- Une filtration frontale lente est ensuite effectuée, avec un filtre compatible alimentaire (filtre en nylon, finesse de 25 µm).

##### \* Expression des résultats

Le calcul de pourcentage de la phycocyanine est réalisé selon les formules suivantes :

$$\text{PC (mg/ml)} = (\text{Abs}_{615} - 0,474 \times \text{Abs}_{652}) / 5,34$$

La pureté de phycocyanine est déduite selon la formule :  $\text{Ab}_{620} / \text{Ab}_{280}$  (Bennett., *et al* 1973).

Avec :

Ab à 620 nm indiquant la concentration de la phycocyanine.

Ab à 280 nm indiquant la concentration totale des protéines.

### I.2.1.2. Polyphénols totaux

#### \* Principe

Le dosage des polyphénols se fait avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi), qui en milieu alcalin se réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols.

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

#### \*Mode opératoire

- Les échantillons d'algues sèches ont été broyés en fine poudre.
- Une quantité de poudre (0.5g) a été utilisée pour l'extraction des phénols.
- En utilisant 10 ml de méthanol (80%) à 35°C pendant 24 heures selon le procédé décrit par (Cai., *et al* 2004).
- Les échantillons de méthanol ont ensuite été refroidis à température ambiante.
- Puis centrifugés à 4000 (x g) pendant 10 minutes.
- Le surnageant obtenu a été utilisé pour l'estimation de la teneur phénolique totale.
- On fait diluer l'extrait de la phycocyanine X1, X2 et X3.
- Puis on met 0,5 ml de chaque dilution dans des tubes à essai pour chacune d'elles.
- On ajoute 5ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin à 10%.
- Après 3 mn on ajoute 0.5 ml de carbonate de sodium 20% (Brand., *et al* 1995).

#### \* 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'étalonnage (Brand., *et al* 1995). Est représentée en annexe (II).

### I.2.1.3. chlorophylle a, b et caroténoïdes

#### \* Principe

L'isolation de nouveaux produits de la dégradation de la chlorophylle demeure l'étape clé pour comprendre les mécanismes du phénomène de la dégradation de la chlorophylle. C'est pourquoi il sera intéressant d'essayer de détecter, d'isoler et de caractériser un (ou plusieurs) catabolite (s) présent (s) dans les échantillons de spiruline.

#### \*Mode opératoire

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

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

#### \* Expression des résultats

Les surnageant obtenus ont été utilisés pour déterminer la concentration de chlorophylle a (chl<sub>a</sub>), de chlorophylle b (chl<sub>b</sub>) et des caroténoïdes totaux (Car) en mesurant l'absorbance aux longueurs d'onde 649,664 et 470 nm. La densité optique est lue au spectrophotomètre UV / Visible (Jenway Genova plus , Staffordshire, Royaume –Uni).

Le contenu en (mg/g) de chaque pigment a été quantifié à l'aide d'équations (06-08) (Lichtenthaler., *et al* 1985):

$$\text{Chla} = 13.75 \cdot A_{664} - 5.9 \cdot A_{649} \quad \text{Equation06}$$

$$\text{Chlb} = 27.43 \cdot A_{649} - 8.12 \cdot A_{664} \quad \text{Equation07}$$

$$\text{Car} = (1000 \cdot A_{470} - 2.13 \cdot \text{Chla} - 97.64 \cdot \text{Chlb}) / 209 \quad \text{Equation08}$$

OÙ: A<sub>664</sub>, A<sub>649</sub> et A<sub>470</sub> sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde à 664,649 et 470 nm.

### I.2.1.4. Pigments solubles dans l'eau (phycobiliprotéines)

#### \*Mode opératoire

- On a utilisé le même protocole de l'extraction de phycocyanine par l'eau.

#### \* Expression des résultats

L'extraction et l'estimation des composants des phycobiliprotéines, y compris la phycocyanine (C-PC), l'allophycocyanine (APC) et la phycoérythrine (PE), ont été déterminées en utilisant un spectrophotomètre avec des longueurs d'onde 620, 652 et 562 nm respectivement selon la méthode décrite par (Anamika., *et al* 2005). Le contenu de chaque composante a été mesuré en utilisant les équations (09- 11).

$$C - PC = [A_{620} - (0.474 \cdot A_{652})]/5.34 \quad \text{Equation 09}$$

$$APC = [A_{652} - (0.208 \cdot A_{620})]/5.09 \quad \text{Equation 10}$$

$$PE = [A_{562} - (2.41 \cdot C - PC) - (0.849 \cdot APC)]/9.62 \quad \text{Equation 11}$$

Où :  $A_{620}$ ,  $A_{652}$  et  $A_{562}$  sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde 620, 652 et 562 nm.

Le pourcentage de phycocyanine calculé en utilisant l'équation (12).

$$\% PC = 1.873 \cdot [A_{615} - (0.474 \cdot A_{652})] \cdot DIL / C \quad \text{Equation 12}$$

Où : DIL est le facteur de dilution et C représente le pourcentage de poudre sèche.

## I.2.2. Activité antioxydant

Le pouvoir antioxydant de la phycocyanine a été mesuré par deux méthodes.

### I.2.2.1.Méthode au diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)

#### \* Principe

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant.

En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Molyneux, 2004). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (Popovici., *et al* 2010 ; Molyneux, 2004).

**\*Mode opératoire**

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'As-EO et de l'As-ME a été déterminée par le test DPPH décrit par Blois, avec de légères modifications.

Sous sa forme radicalaire, le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant ou une espèce radicalaire, son absorption diminue.

- Brièvement, une solution de 0,1 m mol L<sup>-1</sup> de DPPH dans du méthanol a été préparée.
- 4 ml de cette solution ont été ajoutés à 1 ml de solution d'échantillons dans du méthanol

À différentes concentrations.

- Trente minutes plus tard, l'absorbance était mesurée à 517 nm. Une absorbance plus faible du mélange réactionnel indique une activité de piégeage des radicaux libres plus élevée.

**\* Expression des résultats**

La capacité de piéger le radical DPPH d'un antioxydant a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = \frac{\text{Abs control} - \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \times 100 \text{ (IN)}$$

La concentration de l'échantillon fournissant 50 % de piégeage des radicaux libres l'activité (IC<sub>50</sub>) a été calculée à partir du graphique de l'effet DPPH Scavenging pourcentage par rapport à la concentration de l'échantillon. Le BHA (Butylated hydro xyanisole) et l' $\alpha$ -tocophérol ont été utilisés comme standards antioxydants pour comparaison de l'activité.

**I.2.2.2. Détermination du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP****\* Principe**

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>) en ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés (Ou., *et al* 2001).

La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe<sup>3+</sup>/ complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe<sup>2+</sup> peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (Chung., *et al* 2002). En effet, le système FeCl<sub>3</sub>/K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>

confère à la méthode la sensibilité pour la détermination «semi quantitative» des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox (Amarowicz., *et al* 2004).

**\*Mode opératoire**

Le protocole utilisé au laboratoire est basé sur celui décrit par (Oyaizu, 1986).

- Dans un tube à essai en verre contenant 200 µl de solution d'échantillon à différentes concentrations.
- Ont été ajoutés 500 µl de tampon phosphate (0,2M : pH 6,6) puis 500 µl de potassium hexacyanoferrate [K<sub>3</sub>Fe (CN) 6] 1% dans l'eau distillée.
- L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes.
- Un volume de 500 µl d'acide trichloracétique (10%) est ensuite ajouté et le mélange est centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes.
- Un aliquote de 500 µL de surnageant est transféré dans un autre tube auquel ont été ajoutés 500 µl d'eau distillée et 100 µl de FeCl<sub>3</sub> 1% fraîchement préparé dans de l'eau distillée.
- Un blanc sans échantillon est préparé dans les mêmes conditions en remplaçant l'extrait par méthanol.

**\* Expression des résultats**

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par le méthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

**I.2.3. Activité antisolaires****\* Principe**

La présente étude visant à l'examen phytochimique et à l'activité antisolaires de la spiruline, l'extrait a plus de contenu en phycocyanine basé sur cette substance chimique, l'activité photoprotectrice a été évaluée à l'aide de la spectrophotométrie UV visible, où la méthode est la transmission diffuse et la gamme d'UV-visible environ 200-400.

**\*Mode opératoire**

Activité antisolaires ont été déterminés selon la méthode modifiée décrite par (Gharge., *et al* 2018).

- préparations d'échantillons réalisée en dissolvant une concentration de 4 mg % p/v dans 100 ml d'eau distillée (4 mg/100 ml).

**\* Expression des résultats**

Évaluation de l'activité anti-solaire le spectre d'absorption UV pour l'extrait a été obtenu dans la plage de 200 à 400 nm en augment 5 nm de longueur d'onde, à l'aide du spectrophotomètre 6705 UV/Vis.

Le SPF a été déterminé in vitro par spectrophotomètre, comme décrit par (**Yang., et al 2018**).

$$\text{SPF} = \text{CF} \times \text{X} \text{EE} (\lambda \times \text{I} (\lambda) \times \text{ABS} (\lambda), (\text{IN})$$

Où: EE ( $\lambda$ ) est le spectre d'effet érythémal; I ( $\lambda$ ) est le spectre d'intensité solaire; L'ABS ( $\lambda$ ) est l'absorbance de Matériel d'essai; La mucoviscidose est un facteur de correction (-10). Comme décrit (**Sayre., et al 1979**). Les valeurs des constantes sont le tableau annexe(IV).



*Chapitre II*

*Résultats*

*Et discussions*

## II.1. Extraction

### II.1.1. Teneur en phycocyanine

Les concentrations de phycocyanine obtenues pour les trois échantillons (X1, X2 et X3) selon les différentes méthodes d'extractions sont représentées dans le tableau 12.

**Tableau 12:** Valeurs des concentrations et des rapports de pureté de la spiruline de X1, X2 et X3 en fonction du mode d'extraction.

Méthodes d'extraction	Concentration de biomasse sèche de spiruline (mg/ml)			Degré de pureté Sp		
	X1	X2	X3	X1	X2	X3
Extraction par l'eau	0.73	0.42	2.20	0.57	0.34	2.61
Extraction par congélation	0.06	0.04	0.02	0.51	0.98	75.5
Extraction par solvant	0.29	0.29	0.25	1	1	3.83
Extraction par macération lycérol	3.64	1.81	5.44	1.19	0.80	1.57
Extraction par sonification	0.01	0.007	0.005	0.98	1.14	1.25

Nous avons regroupé la différente concentration et les rapports de pureté selon les méthodes d'extraction au niveau de la figure 08.

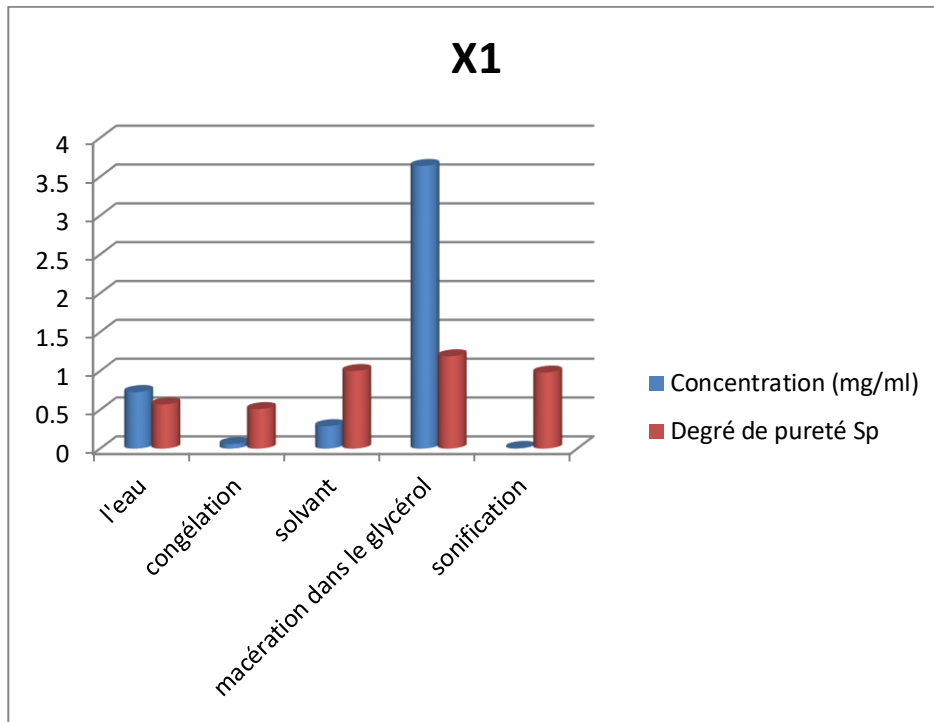


Figure 08: Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X1.

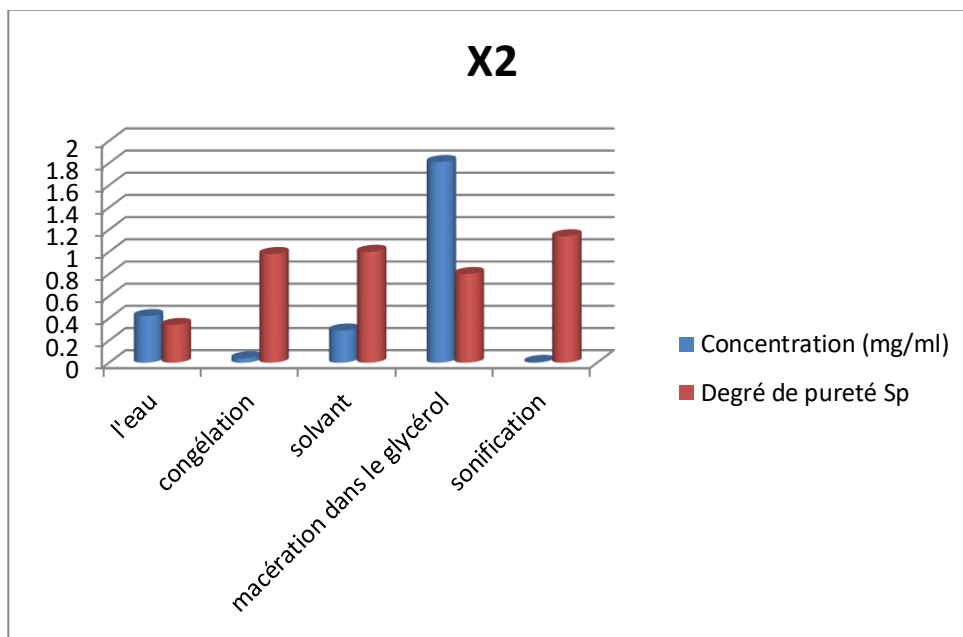
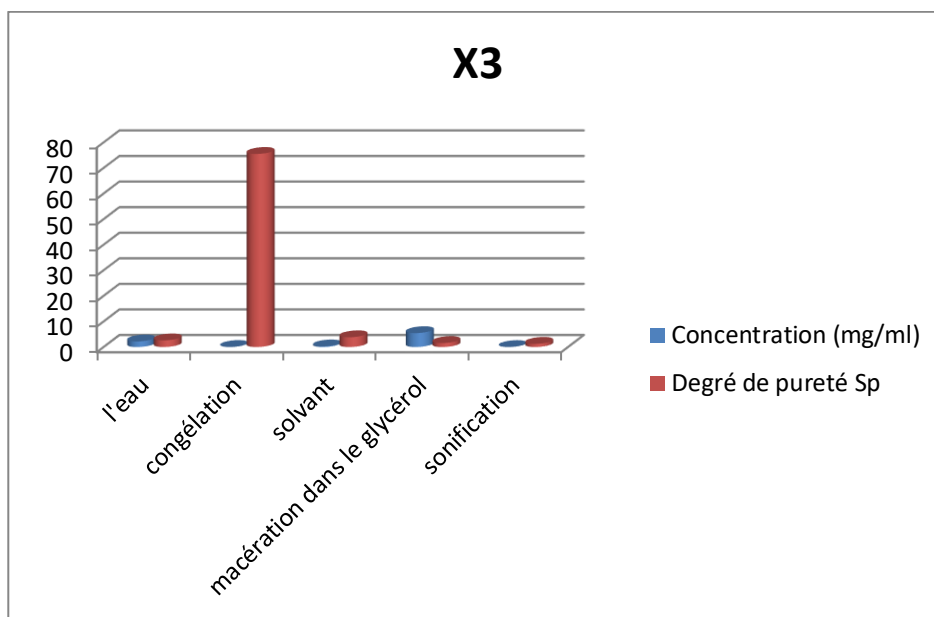


Figure 09: Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X2.



**Figure 10:** Concentrations et pourcentages de pureté de la phycocyanine de spiruline X3.

### a. Description

Dans notre étude, la concentration de phycocyanine variait de Spiruline sèche entre (0.01 à 3.64 mg/ml) pour la spiruline X1, (0.007 à 1.81 mg/ml) pour la spiruline X2 et dernièrement la spiruline X3 (0.005 à 5.44 mg/ml). Nous avons observé que l'extraction par macération dans le glycérol à donné des concentrations supérieures en C-phycocyanine comparativement aux autres méthodes (extraction par congélation, l'eau, solvant et sonification) pour les trois échantillons (3.64 vs 0.73), (1.81 vs 0.42) et (5.44 vs 2.20).

### b. Discussion

La concentration d'extraction n'est pas affectée par la méthode seulement, mais aussi par le mode de culture et les conditions climatiques d'une région à l'autre, ces résultats sont conformes a ceux rapportés par (LAFRI., *et al* 2017) et par (Lamela., *et al* 2000), qui a prouvé que la phycocyanine présente environ 30% de la biomasse, mais sa concentration dans les cellules dépendant des conditions de croissance et le type de souche.

On constate que les valeurs des concentrations de la spiruline X3 sont significativement supérieures à celles de la spiruline X1 et X2.

Selon (PIERLOVISI, 2008), le poids sec des algues est de 30% de protéines végétales, Ce sont des pigments protéinés. Parmi elles, la phycocyanine (Le pigment principal de la spiruline, représentant 15 à 20 % du poids sec de l'algue).

Dans notre étude, l'extraction par macération dans le glycérol nous a donné les valeurs de pureté les plus élevées par rapport aux autres méthodes pour l'échantillon X1 (1.19), et pour ce qui est de X2 a été la méthode de sonification (1.14) et méthode de congélation C'était la pureté la plus élevée pour X3 (152), c'est à dire la pureté est variable entre les méthode utilisé et la région, par conséquent, le degré de pureté le plus élevé était dans l'échantillon de X3 par rapport au d'autre échantillons, et la meilleure méthode qui donné valeur la plus élevée est la méthode de congélation. la valeur commerciale de la c-phycocyanine de qualité alimentaire (pureté de 0.7, définie comme la relation des absorbances de 620 nm à 280 nm) tandis que celle de la c-phycocyanine de qualité réactive (pureté de 3.9), en revanche, la valeur commerciale de l'analyse grade c-phycocyanine (pureté supérieure à 4.0). (Rito., *et al* 2001) obtenus dans les études de (yi-ming., *et al* 1999; Minkova., *et al* 2003), ou ils ont obtenus des taux de puréte de 0,95et 1,8 respectivement, et qui sont similaire à ceux obtenus dans notre étude.

### II.1.2. Teneur en polyphénols totaux

En utilisant la méthode du (Cai., *et al* 2004), et en utilisant l'équation linéaire du courbe étalon de l'acide gallique dans le méthanol (voir l'annexe 02), la teneur quantitative en polyphénols de l'extrait méthanolique est exprimée en mg, acide gallique équivalent gramme de matière sèche comme indiqué dans le figure 09.

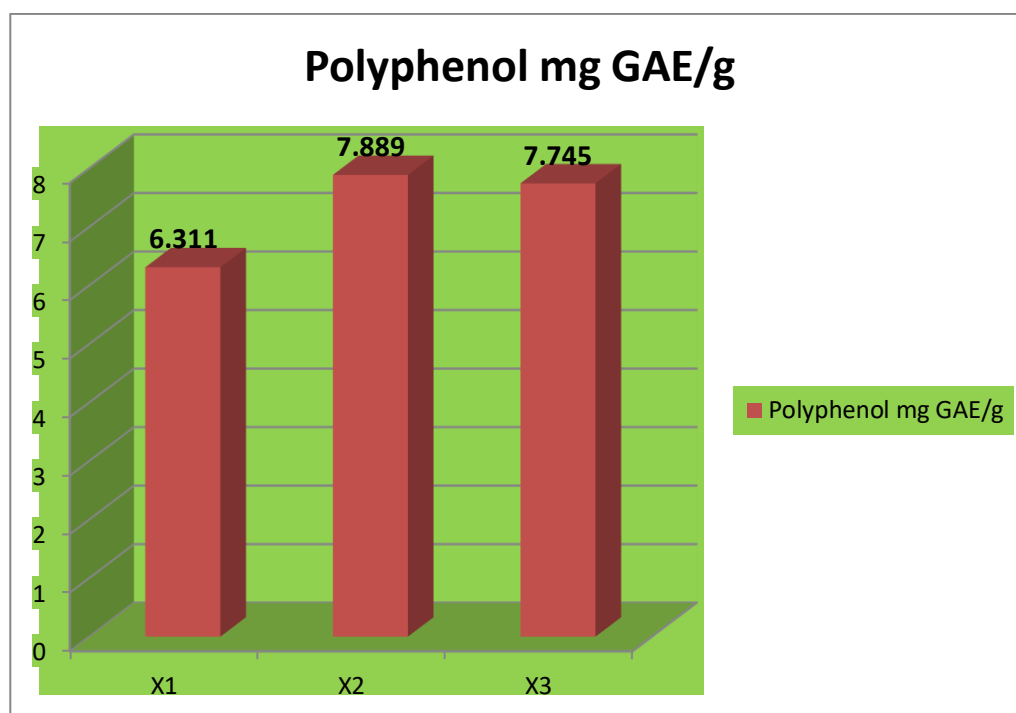


Figure 11 : Teneur en polyphénols de différents échantillons de spiruline.

### a. Description

A travers les résultats inclus dans la figure 3:

La quantité de composés phénoliques était proche dans les échantillons du X1, X2 et X3, puisque ses valeurs ont été estimées 6.311 / 7.889 / 7.745 respectivement.

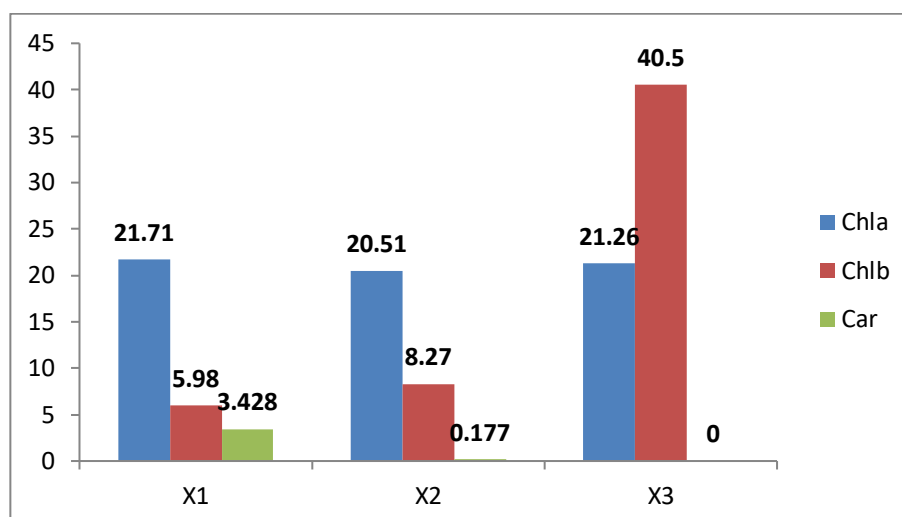
Cependant la spiruline de X2 a donné des valeurs supérieures en polyphénols par rapport à ceux de spiruline X1 et X3.

### b. Discussion

Les phycocyanines sont riches en poly phénols. Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Bujard., et al 1970**. Les principaux facteurs affectant le contenu phénolique sont la diversité, comme en témoigne l'analyse multi variée. Concentré sur (**Ariane., 2011**) pour explorer davantage l'impact du système de culture, car il n'y a pas de différence entre les systèmes dans le contenu phénolique total, et les procyanidines ont des niveaux similaires entre les systèmes (**Porvellick., et al 2014**), ce qui est applicable à notre étude des trois échantillons de microalgues spiruline.

#### II.1.3. Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes

Les quantités de chlorophylles et e caroténoïdes observées dans cette étude sont présentées dans la figure 10.



**Figure 12:** Teneur en chlorophylle " a", " b" et caroténoïdes en (mg/g) dans différentes souches de spiruline.

### a. Description

Dans la figure 10 on observées la quantité de chlorophylle et caroténoïde. Teneur en chlorophylle a de l'échantillon de X1: 21.71mg/g, X2: 20.51 mg/g et X3: 21.56 mg/g.

### b. Discussion

La chla est le principal pigment photosynthétique chez les micro algues par rapport à chlorophylle b (Chl b) (**Richmond, 2004**) Ce dernier apparaît comme un pigment accessoire pour les systèmes de récolte de lumière dans les algues vertes, constituant 30% de la chlorophylle totale (**Folly, 2000**), Les processus de production de biomasse et la teneur de pigment sont affectés par la température du milieu de culture, ce constat va dans le même sens que l'étude de (**Lamela., et al 2000**) . Ou ils ont montrés que le taux de croissance est en relation directe avec la quantité de la chlorophylle produite.

Allant de 20 à 40°C lorsqu'il s'agit de spiruline, car la température de croissance optimale dépend de la souche (**Kumar., et al 2011**). Qui similaire s'appliquait à notre étude pour les trois échantillons, OÙ nous trouvons à X1 et X2 Production maximale enregistrée de chlorophylle a par rapport à la chlorophylle b, Avec un faible pourcentage de caroténoïdes enregistrés. Quant à X3 on observe chlorophylle b beaucoup plus élevé que chlorophylle a, et l'absence de caroténoïdes.

Selon (**Externe, 2016**), il a été constaté que le pourcentage de chlorophylle a est supérieur à celui de chlorophylle b. Cette étude est similaire à celles de Spiruline X1 et X2

#### II.1.4. Teneur en phycobiliprotéines

La quantité de phycobiloprotéines dans les échantillons de spiruline est présentée dans le tableau 13.

**Tableau 13** : Teneur en phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) en (%), phycocyanine brute en (%) et pureté.

	C-PC	A-PC	PE	Phycocyanine	Pureté
Spiruline X1	0.02	0.008	0.01	0.73	0.57
Spiruline X2	0.01	0.008	0.01	0.42	0.34
Spiruline X3	0.08	0.03	0.01	2.20	2.61

### a. Description

La quantité de phycoérythrine (PE) dans les trois échantillons de spiruline X1, X2 et X3 était très similaires (0.01) entre elle, et faible par rapport l'autre pigment.

Les valeurs de teneur en phycocyanine dans la spiruline, où la valeur la plus élevée a été obtenue à la spiruline X3 (2.20 %).

La spiruline X3 contient en moyenne les niveaux les plus élevés C-PC et APC 0.08 et 0.03% respectivement, suivi par la spiruline X1 et X2, qui ont des proportions proches où (X1: C-PC=0.02%, APC=0.008%) et (X2: C-PC=0.01%, APC=0.008%).

La teneur moyenne en pureté de la souche X3 étudiée était supérieure à 0.7, et X1/X2 est inférieur à lui.

### b. Discussion

La quantité de phycoérythrine (PE) elle est faible par rapport l'autre pigment car ces résultats concordent avec (**Bogorad, 1975; Tandeau de Marsac, 1983**), c'est à dire Il n'est pas possible de produire PE (**AOUIR, 2017**).

Selon (**Kumar., et al 2011**) Ils ont rapporté que les taux les plus élevés de les bio pigments de *S. platensis* (PC, APC, PE, Cart/Chl.a, PC/ Chl.a) étaient obtenus à une température de 35°C. A travers nos résultats, dans X1 et X2, la proportion de protéines y est moindre, ce qui indique une différence de condition climatique, c'est-à-dire la température (loin de 35 degrés), contrairement au X3 qui lui correspond car nous y avons enregistré les niveaux les plus élevés de protéines, Cette différence est due à une modification du milieu de plantation et de la région dans X1 et X2 qui a une température supérieure à X3.

*A. platensis* est une source majeure de pigments naturels, dont la phycocyanine comme pigment principal (**Campanella., et al 2000**). C'est pourquoi nous avons trouvé la valeur de phycocyanine plus élevée que les autres protéines comme étant la plus importante.

Selon (**Rito, 2001**), une pureté de 0.7 est considérée de grade alimentaire, 3.9 de grade réactif et supérieur à 4 de drade analytique.

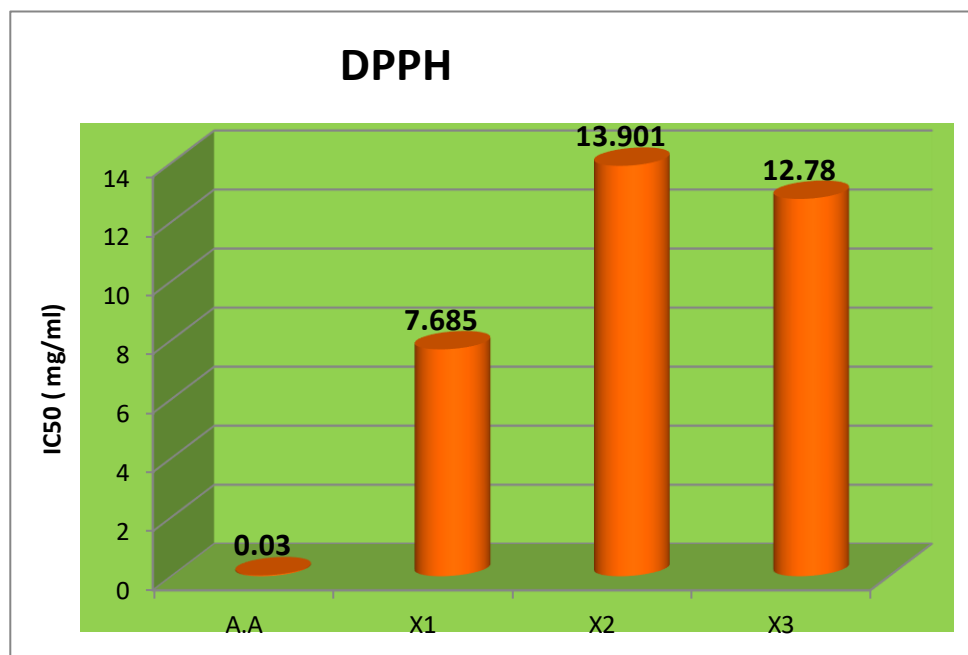
## II.2. Activité anti oxydante

Dans le but d'estimer l'action antioxydant inhibitrice des extraits des spiruline X1, X2 et X3, le test DPPH et le test de reflux de fer FRAP ont été utilisés, qui sont considérés comme les méthodes les plus largement utilisées pour estimer l'effet de déplacement des antioxydants en laboratoire. et l'acide ascorbique utilisé comme standard.

### II.2.1. Méthode au diphenylpicrylhydrazyl (DPPH)

#### a. Description

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> exprimant la concentration inhibitrice des radicaux libres DPPH figure 11 ont été déterminées par des équations linéaires des courbe ½ d'inhibition (I) pour l'acide ascorbique et les extraits de spiruline X1, X2 et X3, voir annexe (III).



**Figure 13:** Valeurs IC<sub>50</sub> pour les extraits de spiruline X1, X2 et X3 et de standard en mg/ml.

A travers la figure 11 qui montre les valeurs IC<sub>50</sub>, on note que l'extrait X1 a surpassé tous les extraits dans la capacité à nettoyer les radicaux libres DPPH, enregistrement 7.685 mg/ml par rapport les autre échantillons, suivi de X3 avec une valeur estimée (12.78 mg/ml) puis vient X2 avec une valeur de (13.901 mg/ml).

#### b. Discussion

On sait que l'acide ascorbique a une propriété antioxydant très élevée et c'est pourquoi nous l'avons utilisé comme standard pour le comparer à nos échantillons, où le rôle antioxydant de l'acide ascorbique découle de ses propriétés réductrices. C'est l'antioxydant hydrosoluble le plus puissant. Il est capable d'interagir directement avec des espèces de réactifs oxygénés et azotés. Et cela est confirmé par nos résultats qui sont cohérents avec (Sekli, 2011).

Étant donné que l'activité antioxydant est inversement proportionnelle aux valeurs d'IC<sub>50</sub>, plus les valeurs d'IC sont faibles, meilleure est l'activité d'inhibition des radicaux

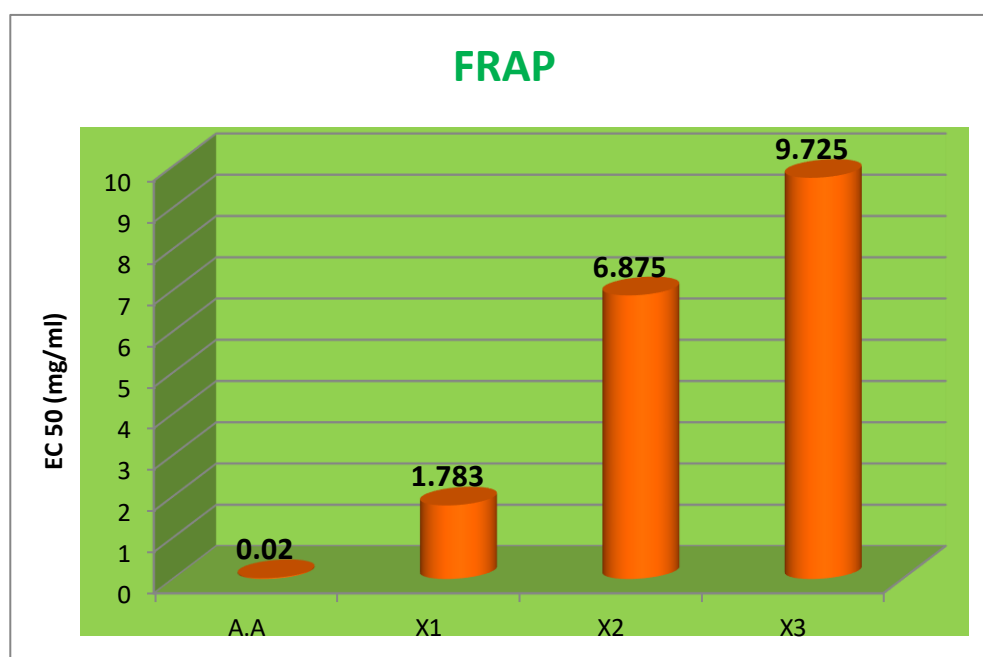
libres (NETO., *et al* 2016).

En comparant les IC50 des extraits de spiruline et l'acide ascorbique nous avons remarqué l'IC50 de l'acide ascorbique est petite que les extraits, donc l'activité antioxydant élevée de la fraction d'acide ascorbique qui est supérieur à la capacité du piégeage du radical DPPH des extraits.

Alors que l'échantillon X1 a une activité antioxydant plus élevée que le reste des échantillons X2 et X3 que cette différence entre les échantillons est due à la différence de milieu de culture ainsi qu'au climat de la région, ces résultats coïncident avec ceux mentionnés par (LAFRI., *et al* 2017).

### II.2.2. Détermination du pouvoir réducteur par la méthode de FRAP

Le pouvoir réducteur de la spiruline a été estimé par le degré de transformation de l'ion Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>, souvent utilisé pour déterminer la capacité antioxydant particulièrement celle exercée par des composés phénoliques. Les résultats exprimés en Figure 12 nous avons obtenu un pouvoir réducteur faible de la spiruline par rapport à celui de composé synthétique Acide ascorbique.



**Figure 14:** Valeurs EC50 pour les extraits de spiruline X1, X2 et X3 et de standard en mg/ml.

La spiruline présente un pouvoir réducteur significativement plus faible à celui de l'acide ascorbique. l'EC50 calculé de l'acide ascorbique 0.02 mg/ml, alors que celui de la spiruline est Plages entre (1.783 - 9.725 mg/ml), Des résultats similaires ont été rapportés par (Anissa, 2018 ; Shukla., *et al* 2009) dans la spiruline.

Les effets de divers extraits de Spiruline X1, X2 et X3 et l'acide ascorbique sont illustrés à la figure 1. Parmi les trois extraits de méthanol de la spiruline, la plus grande activité antioxydant a été observée dans l'échantillon X1 figure 12. Où, les valeurs IC50 pour l'activité de réduction de puissance de la spiruline X1, X2 et X3 étaient respectivement de 1,783, 6,875 et 9,725.

Comme le montre dans l'annexe (III), les pouvoirs réducteurs (absorbance à 700 nm) des trois échantillons de spiruline. Le plus grand pouvoir réducteur a été observé dans la spiruline X1 par rapport aux autres X2 et X3. Par conséquent, les extraits de spiruline étaient des donneurs d'électrons et peuvent réagir avec les radicaux libres pour les convertir à des produits plus stables et mettre fin à la réaction radicalaire en chaîne.

### II.2.3. Discussion générale de l'activité antioxydant

**Tableau 14:** Activités antioxydants de la spiruline X1, X2 et X3.

Extraits/normes	DPPH. (IC50:mg/ml)	FRAP (EC50:mg/ml)
Acide ascorbique	0.03	0.02
Spiruline X1	7.685	1.783
Spiruline X2	13.901	6.875
Spiruline X3	12.78	9.725

En général, L'extrait de X1 a un pouvoir antioxydant très élevé grâce aux valeurs d'IC50 et d'EC50 pour les activités DPPH et pouvoir de réduction qui étaient respectivement de 7.685 mg/ml et 1.783 mg/ml par rapport au reste des échantillons X2 et X3, mais il est considéré comme faible par rapport à l'acide ascorbique, l'un des puissants antioxydants Tableau 14.

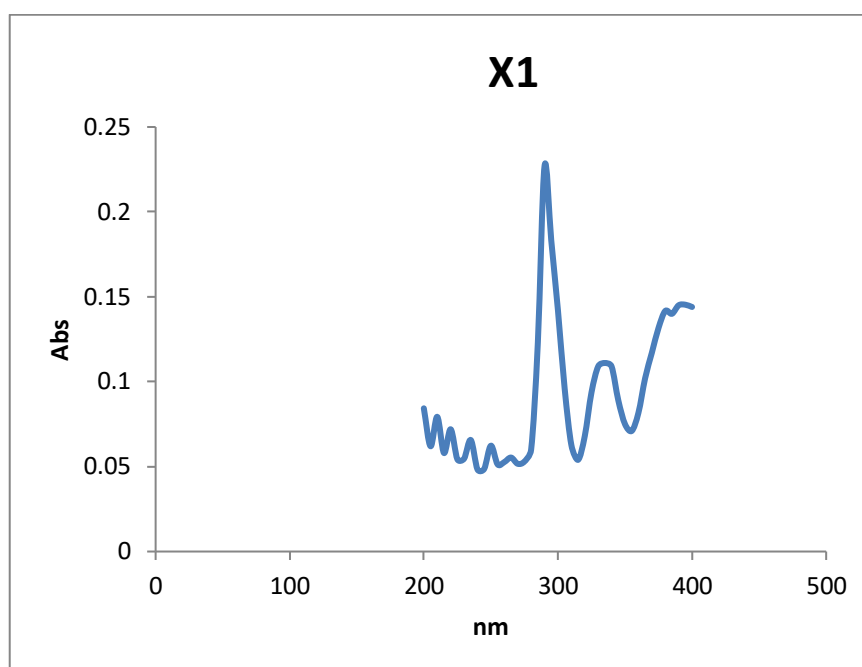
L'activité antioxydant totale, la teneur en composés phénoliques totaux et des extraits méthanoïque de trois échantillons de spiruline, X1 et X2 et X3 in vitro, ont été déterminés. L'extrait de X1 a montré l'activité antioxydant la plus élevée. Cependant, il n'y avait aucune corrélation entre l'activité antioxydant et le contenu phénolique total des extraits. Bien que l'extrait au X2 ait les teneurs phénoliques totales les plus élevées, il a montré une faible activité antioxydant.

Il a déjà été rapporté qu'il existe une corrélation entre la teneur totale en composés phénoliques et l'activité antioxydant des extraits de plantes. Comme indiqué par

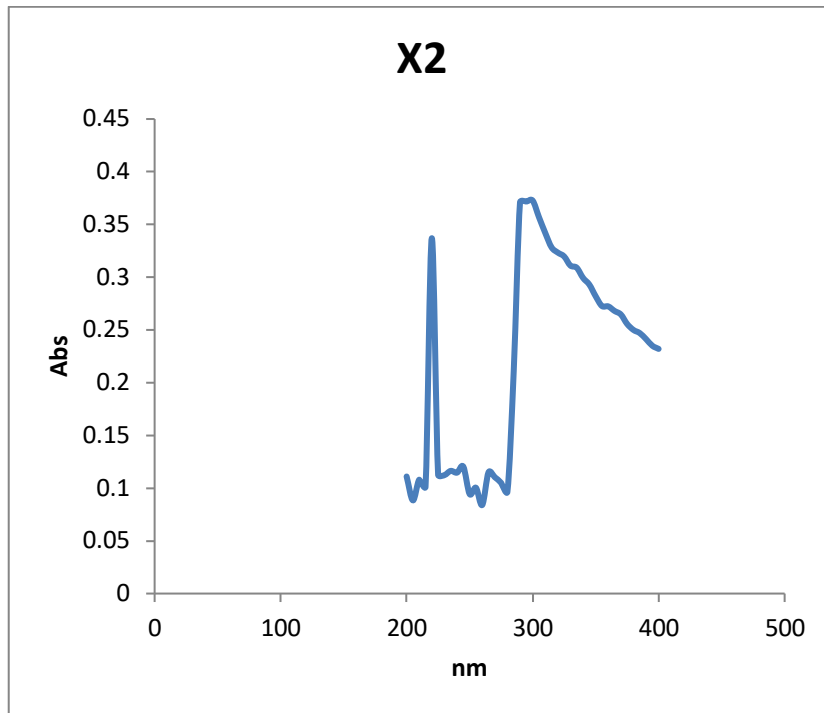
(Jayaprakasha., *et al* 2000; Hidalgo., *et al* 1994). De nombreuses enquêtes ont découvert que les composés phénoliques ont également des effets biologiques, comme par exemple anti-inflammatoires propriétés antioxydants, antimicrobiennes, antiulcérogènes et même anticancéreuses capacités (Alarcón. *et al* 2008 ; Carro., *et al* 2016 ; Glód., *et al* 2015 ; Granato., *et al* 2013 ; Kina., *et al* 2021 ; Mohamed., *et al* 2021 ; Pehlivan., *et al* 2021 ; Valdés, 2015). Cependant, nos résultats n'ont montré aucune corrélation entre les activités antioxydants et les teneurs en composés phénoliques totaux, Ces les résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Odabasoglua., *et al* 2005).

### II.3. Activité anti solaire

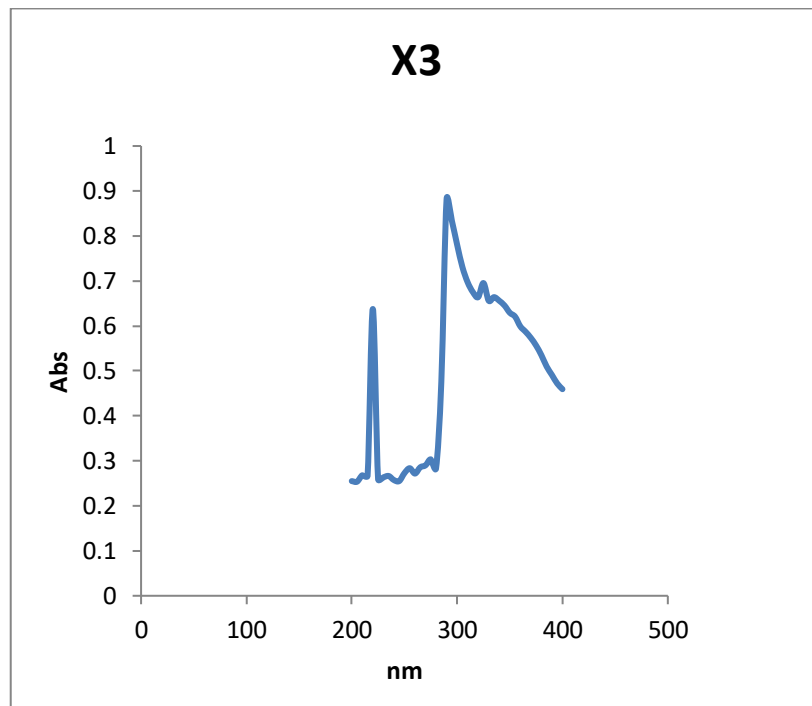
La lecture calculée de l'absorption du spectre des extraits pour la spiruline X1, X2 et X3 dans la figure 13.



**Figure 15:** la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X1.



**Figure 16:** la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X2.



**Figure 17:** la figure suivante indique la lecture informatisée des spectres d'absorption de l'extrait qui est directement prise du spectrophotomètre pour la spiruline X3.

### a. Description

Les spectres d'absorption par balayage UV de l'extrait de X2 ont montré une très forte absorption à 0.373 A avec  $\lambda$  max à 300 nm, comme pour l'extrait de X1 à 0.183 A avec  $\lambda$  max à 295 nm et enfin l'extrait d'Oran à 0.881 A avec  $\lambda$  max à 290 nm. L'extrait de graphique a également montré un plateau dans gamme de 300-400 nm avec une absorbance modérée de (de 0.13 à 0.37) dans l'extrait du X2, dans la même gamme, il y avait une variation d'absorption dans l'extrait de X1 de (0.05 à 0.14), une diminution de l'absorption de (0.78 à 0.45) dans l'extrait de X3.

Le tableau 15 montre la valeur de cette micro-algue spécifique spiruline, au facteur de protection solaire, les valeurs des constantes sont le tableau annexe (IV), nous avons enregistré la valeur la plus élevée de SPF à spiruline X3 avec une valeur de 7,4, suivi de spiruline X2 avec une valeur de 3,53 et enfin spiruline X1 avec une valeur de 1.04.

**Tableau 15:** Les valeurs SPF moyenne  $\pm$  écart type des extraits de phycocyanine.

	SPF
Spiruline X1	1.04 $\pm$ 0.001
Spiruline X2	3.53 $\pm$ 0.005
Spiruline X3	7.4 $\pm$ 0.002

### b. Discussion

Basé sur la valeur de cette micro-algue sélectionnée la spiruline, avec un SPF qui signifie la capacité à protéger des rayons UV du solaire (**Gharge., et al 2018; Majeed., et al 2020**). Ces résultats indiquent que la phycocyanine est un antioxydant avec une valeur SPF élevées peut donc être utilisée comme ingrédient dans les formulations de crèmes solaires topiques. Ce serait une alternative meilleure, moins chère et sûre aux écrans solaires chimiques nocifs qui sont aujourd'hui utilisés dans l'industrie.

Ces résultats sont cohérents avec de (**Favas. et al 2022**) où il est prouvé que les extraits de cyanobactéries méritent une exploitation plus poussée dans le domaine du vieillissement cutané, ciblant la recherche d'ingrédients naturels, sûrs et durables pour les formulations cosmétiques. (**Ragusa., et al 2021**) ont également confirmé que la spiruline est un composant bioactif potentiel pour le développement de cosmétiques efficaces et sûrs.

Compte tenu de l'émergence actuelle de l'industrie de la beauté, divers extraits de spiruline et poudres/flocons secs, à la fois l'ingrédient principal et le produit cosmétique final de la spiruline, sont disponibles sur le marché. Dans ce domaine industriel, la spiruline - principalement *Spirulina platensis* et *Spirulina maxima* - est utilisée soit sous forme de poudre, comme dans des produits moins chers, soit sous forme d'extrait bleu riche en phycocyanine, notamment dans le marché du luxe. La diversité, la qualité et les applications topiques de la spiruline sont susceptibles d'augmenter rapidement dans les années à venir (**Ragusa., et al 2021**).



*Conclusion*

Ces dernières années, la microalgue a été très concernée par la santé humaine en raison de sa composition riche en molécules nutritionnelles et en activités protectrices pour l'organisme, car elle contient de la phycocyanine, qui a attiré l'attention des scientifiques pour ses multiples bienfaits pour la santé tels que la prévention de l'athérosclérose et la prévention du cancer avec son effet anti-radicalaire.

Après préparation des extraits des trois échantillons de spiruline, la méthode au glycérol était la meilleure méthode de production de phycocyanine pour spiruline X1, X2 et X3 (3.64mg/ml, 1.81mg/ml et 5.44mg/ml) échantillons respectivement, et pour X3 échantillon c'était le meilleur échantillon pour sa production.

En ce qui concerne le processus d'extraction de la teneur en polyphénols, l'échantillon X2 a surperformé le reste des échantillons avec une valeur de 7,889 %. Quant aux caroténoïdes, spiruline X1 a enregistré un taux 3.428 mg/g. En revanche, spiruline X2 et X3 étaient absents, d'autre part la spiruline X3 également enregistré la valeur la plus élevée pour la teneur en chlorophylle "a" estimée à 3.428 mg/g et chlorophylle "b" à 40.5 mg/g par rapport aux autres échantillons. En termes de teneur en pigment, X3 a surpassé le reste des échantillons.

Afin d'étudier l'activité biologique des trois échantillons, nous avons étudié l'activité antioxydant en utilisant DPPH et FRAP, la spiruline X1 possède une activité antioxydant plus haut par rapport aux autres échantillons, où elle a été enregistrée comme (IC<sub>50</sub> : 7.685mg/ml, EC<sub>50</sub>: 1.783mg/ml).

Quant à l'activité antisolaire des extraits de phycocyanine, qui a une capacité d'absorber les rayons ultraviolets, où la spiruline X3 a enregistré la valeur la plus élevée de SPF de 7,4.

On peut conclure, il est devenu clair à travers les résultats obtenus pour le rendement d'extraction de la phycocyanine par la méthode au glycérol qu'il s'agit de la meilleure méthode par rapport aux recherches scientifiques précédentes et que le reste des méthodes étaient similaires, avec l'apparition d'une activité antioxydant élevée pour les extraits méthanoliques des trois échantillons. Et dans l'activité protectrice du solaire, nos échantillons nous ont donné des valeurs élevées du facteur de protection solaire et ont donc une grande efficacité contre les rayons ultraviolets.

### **Perspective et recommandation**

- \* Il est très important de prêter attention aux détails lorsque vous travaillez en laboratoire.
- \* Vous devez être aussi précis que possible dans vos mesures, sinon les résultats seront trompeurs ou erronés.
- \* Lors du prélèvement d'échantillons, vous devez savoir utiliser des outils tels qu'une pipette.
- \* Utilisez la balance avec précision, car vous en aurez besoin dans l'environnement de travail du laboratoire pour traiter des quantités très petites et précises, et toute erreur, aussi petite soit-elle, peut entraîner l'échec complet de l'expérience scientifique.
- \* La capacité à stériliser les différents équipements et à les maintenir propres et stériles, ce qui assure l'exactitude des analyses.
- \* Capacité à respecter les normes de sécurité combinaison, lunettes, respirateurs et gants.
- \* La compétence d'organisation et d'agencement qui facilite le travail à l'intérieur du laboratoire.

Enfin, nous recommandons dans un avenir proche l'étude analytique des extraits de phycocyanine (HPLC) pour séparer, identifier et doser ses composés, et investir la méthode aumacération glycérol pour obtenir plus de quantités de phycocyanine comme meilleur moyen de l'extraire. À l'avenir, nous espérons que les chercheurs l'utiliseront dans les produit antioxydants et mèneront une étude pour l'associer à des crèmes antisolaires car il protège la peau contre les rayons du soleil.



*Référence*

*Bibliographique*

**Al Ghanayem A. 2017** : Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Extracts Against Certain Pathogenic Bacteria and Fungi ; Original Article, Advances in BioResearch, Journal's URL : [http : // www.soeagra.com / abr.html](http://www.soeagra.com/abr.html), Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, Shaqra University, Shaqra, Kingdom of Saudi Arabia.

**Alarcón, E., Campos, A., Edwards, A., Lissi, E., & López-Alarcón, C. (2008)**. Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies. *Food Chemistry*, 107(3), 1114-1119.

**All M.G., Dankoko B., Badiane M., EhuaE., Kuwakuwi N., 1999**: La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Dakar, Sénégal, Article 46 (3).

**Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004)**. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food chemistry*, 84(4), 551-562.

**Anamika. P, Sandhya M, RichaPawar, P.K. Ghosh., (2005)**. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein Expression and Purification*, Vol. 40, p. 248-255.

**Anamika. P, Sandhya M, RichaPawar, P.K. Ghosh., (2005)**. Purification and characterization of C- Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. *Protein Expression and Purification*, Vol. 40, p. 248-255.

**Andreani C. G., 2012** : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.

**Anissa, G. H. E. N. N. A. I. (2018)**. Approche immuno-inflammatoire de l'insulinorésistance au cours de la diabésité chez Psammomysobesus: impact de la phytonutrition par la spiruline (Doctoral dissertation, UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE)

**Australian Government, Department of Health and Ageing.** Therapeutic. Compositional guideline, *Arthrospiraplatensis*. [www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm](http://www.tga.gov.au/docs/html/compguid/platensis.htm), page consultée le 05 décembre 2006.

**Aychunie S., Belay A., Baba T.W., Ruprecht R.M., (1998)**. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*), *JAIDS J. Acquir. Immune Defic. Syndr*, Vol.18, p. 7-12.

**Balloni, W., Tomaselli, L., Giovannetti, L. et Margheri, M.C. (1980).** Biologia fondamentale del genere *Spirulina*. Materassi R. (ed) Prospettive della coltura di *Spirulina* in Italia. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Rome [en ligne], 49-85

**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 cotes d'amor, Manuel, p 10, 11.

**Belay, A. (1997).** Mass culture of *Spirulina* outdoors .The Earthrise Farms experience

**Belay, A. (2002).** The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J. Am. Nutraceut. Assoc* [en ligne], 5, 27-48.

**Bennett. A. and Bogorad. L. (1973).** Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol* . 58: 419 – 435

**Bhat V.B., Madyastha K.M., (2000).** C-phycoyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, vol. 275, p.20-25.

**Bogorad I., (1975).** Phycobiliproteins and complementary chromatic adaptation. *Ann. Rev. Plant Physiol*, vol. 26, 369-401

**BOUDAUD S., 2016 :** l'Incorporation de la Spiruline sur les Qualités Nutritionnelles Organoleptiques et Technologiques du Couscous Artisanal, Mémoire de Master en Agronomie Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, p 35

**Boussiba S., Richmond A.E., (1979).** Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology*, vol.120, p. 155-159

**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.

**Briend, A,1998 :** La malnutrition de l'enfant Institut Danone, rue du Duc 100, Bruxelles.

**Bruno Sialve, Jean-Philippe Steyer.** Les microalgues, promesses et défis. Innovations Agronomiques, INRAE, 2013, 26, pp.25-39. hal-01137072

**Bujard,E.U.,Braco,U.,Mauron,J.,Mottu,F., Nabholz,A., Wuhrmann, J-J. et Clément, C. (2014).** Purification and immunomodulating activity of C- phycocyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas. *Process Biochimie* [en ligne], v 49, 1337-1344.

**Cai Y.Z, Luo Q, Sun M., Corke H., (2004).** Antioxidant activity and phenolic compounds of

112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.*, vol. 74, p. 2157-2184.

**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.

**Campanella L., Cubadda F., Sammartino M.P., Saoncella A., (2000).** An algal biosensor for the monitoring of water toxicity in estuarine environments. *Water Res.*, vol. 35, p. 69-76.

**Campanella, L., G. Crescentini, et P. Avino. 1999.** "Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on *Spirulina*." *Analisis* 27 (6):533-540.

**Carro, R.T., D'almeida, R.E., Isla, M.I., & Alberto, M.R. (2016).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Frankenia triandra* (J. Rémy) extracts. *South African Journal of Botany*, 104, 208-214

**CASAL A., 2019 :** l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web [www.spirulinefrance.fr](http://www.spirulinefrance.fr)

**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.

**Cases, J., Vacchina, V., Napolitano, A., Caporiccio, B., Besancon, P., Lobinski, R. and Rouanet, J.M., 2001 :** Selenium from selenium-rich *Spirulina* is less bioavailable than selenium from sodium selenite and selenomethionine in selenium-deficient rats, *J. Nutr.*, V. 131, n°9, 2343- 2350.

**Castenholz, R.W. (2001).** Phylum BX. Cyanobacteria. Oxygenic Photosynthetic Bacteria. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1: The Archaea and the Deeply Branching and Phototropic Bacteria. Second Edition. G. Garrity, D. R. Boone, and R. W. Castenholz (eds.) Springer-Verlag, New York.

**Chaiklahan R., Chirasuwan N., Bunnag B., (2012).** Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina* sp.: influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochem.*, vol. 47, p. 659-664.

**Challem, J.J., Passwater, R.A. et Mindell, E.M. (1981).** *Spirulina*. KeatsPublishing. Inc. New Canaan, Connecticut

**Chen H.W., Yangb T.S., Chena M.J., Chang Y.C. et al., (2014),** Purification and immunomodulating activity of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas. *Process Biochemistry*, vol. 49, p. 1337-1344.

**Chen H.W., Yangb T.S., Chena M.J., Chang Y.C. et al., (2014),** Purification and immunomodulating activity of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* cultured using power plant flue gas. *Process Biochemistry*, vol. 49, p. 1337-1344.

**Chen, H-W., Yang, T-S., Chen, M-J., Chang, Y-C., Eugène I.C-**

**Chen, T., Wong, Y.S., and Zheng, W., (2006).** Purification and characterization of selenium-containing phycoyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. *Phytochemistry* 67(22): 2424-2430.

**Christaki E., Bonos E., Giannenas I., Florou-Paneri P., (2016).** Phycobiliproteins: A new perspective in natural pigments derived from microalgae. *J Oceanogr Mar Res*, 4:114.

**Chung, S. Y., Bloking, J. T., & Chiang, Y. M. (2002).** Electronically conductive phospho-olivines as lithium storage electrodes. *Nature materials*, 1(2), 123-128.

**Ciferri, O. (1983).** *Spirulina*, the Edible Microorganism. *Microbial. Rev.* Vol.47:551-578.

**Clement g., 1975-**Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina maxima* et *platensis*. *Ann. Nutr. Aliment.* 29(6), pages 477-487.

**Clément, G. (1975).** Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *Spirulina maxima*. *Ann . Nutr. Aliment.* Vol. 29 : 477-487.

**Cogne, G., Lehmann, B., Dussap, C.G. et Gros, J.B., 2002:** Uptake of macrominerals and trace elements by the cyanobacterium *Spirulina platensis* under photoautotrophic conditions: Culture medium optimization *Biotechnology and Bioengineering* V. 81, n° 5, 588 –593.

**Costa et al. 2002.** Analyse par entropie multi-échelle de séries chronologiques physiologiques complexes.

**Cruchot, H., 2008 :**"La spiruline bilan et perspectives", Thèse de doctorat, 332p.

**Cuellar-Bermudez S.P., Aguilar-Hernandez I., Cardenas-Chavez D.L., Nancy Ornelas Soto, Miguel A., Romero-Ogawa M.A., Parra-Saldivar R., (2015).** Extraction and

purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microbial Biotechnology*, vol. 8, n°2, p. 190-209.

**Delpeuch, F., A. Joseph, et C. Cavalier. 1976.** "Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad)." *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation* 29:497-516.

**Doumège F, Durand-Chastel H, Toulemont A. 1993.** Spiruline, algue de vie/Spirulina, algae of life. Bulletin de l'institut Océanographique de Monaco.

**El-Sheekh M.M., Fathy A.A., (2009).** Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of *Chlorella vulgaris* Beijerinck grown under auto and heterotrophic conditions. *International Journal of Botany*, vol. 5, p. 153-159.

**Evoliconseil, Dupont D ., Souchon I ., 2014:** Structure de Aliments Effets Nutritionnels, Edition Quae, RD 10,78026 Versailles Cedex. P451.

**Externe, R. (2016).** *Etude de la composition de Spirulina cultivée dans le Nord de Madagascar et fabrication d'un aliment Bio pour crevettes à base de Tacca leontopetaloides et de Spirulina* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO).

**Falquet, J., Hurni, J.P., 2006** Spiruline, Aspects Nutritionnels, Antenna Technologies, 41p.

**Farrar, W.V. (1966).** Techuitlatl, a Glimpse of Aztec Food Technology. *Nature*. N°

**Favas, R., Morone, J., Martins, R., Vasconcelos, V., & Lopes, G. (2022).** Cyanobacteria Secondary Metabolites as Biotechnological Ingredients in Natural Anti-Aging Cosmetics: Potential to Overcome Hyperpigmentation, Loss of Skin Density and UV Radiation-Deleterious Effects. *Marine drugs*, 20(3), 183.

**Fedkovik, Y., Astre, C., Pinguet, F., Gerber, M., Ychou, M. et Piujo, H. (1993).** Spiruline et cancer. *Spiruline, algue de vie* ; bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco N° spécial 12 – Monaco, Musée océanographique. p. 117-119.

**Flaquet, J. et Hurni, J-P. (2006).** Spiruline Aspects Nutritionnels.

**Folly, P. (2000).** *Catabolisme de la chlorophylle b: structures, mécanismes et synthèse* (Doctoral dissertation, Université de Fribourg).

**Fox, R. D. (1999).** La spiruline : technique, pratique et promesse. *Edisud*: 246. ISBN2-7449-0100-8. p. 18-129.

**G. (1970).** Composition and nutritive value of blue green algae (spirulina) and their possible

use in food formulation. 3rd International Congress of Food Science and Technology, Washington. [en ligne].

**Geitler, L. (1932).** Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Leipzig, Akad. Verslagsges. 1932. Reprinted 1971, New York, Johnson. p. 1-1196.

Genève. Antenna Technologies. 41p.

**Gharge, V., Lokhande, T., & Hadpad, S. (2018).** Anti-solar study of ethanolic extract of leaves *Cassia fistula*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(5-s), 232-234.

**Gibson, R.S., 2005.** Zinc: the missing link in combatting micronutrient malnutrition in developing countries, *Proc. Nut. Soc.*, V. 65, 51-60.

**Glód, B.K., Wantusiak, P.M., Piszcz, P., Lewczuk, E., & Zarzycki, P.K. (2015).** Application of micro-TLC to the total antioxidant potential (TAP) measurement. *Food Chemistry*, 173, 749-754.

**Goja A.M., Yang H., Cui M., Li C., (2013),** Aqueous two-phase extraction advances for bioseparation. *J. Bioprocess. Biotechnol.*, vol. 4, p. 1-8.

**Gonzalez-Comas, A., Obrado, E., Manosa, L., Planes, A., Chernenko, V.A., Hattinh, B.J., & Labarta, A (1999).**

**GOULAMABASSE Tessine Raza :** « la spiruline : activité thérapeutique et son intérêt dans la lutte contre la malnutrition à Madagascar ». Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie 20/06/2018.

**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.

**Granato, E.M., Granato, M.M., Gerenutti, M., Silva, M.G., Ferraz, H.O., & Vila, M. (2013).** Prospecção fitoquímica da espécie vegetal *Trixis antimenorrhoea* (Schrank) Kuntze. *Revista Brasileira de Farmácia*, 94(2), 130-135.

**Guan X., Zhang W., Zhang X., Li Y., Wang J., Lin H., Tang X., Qin S., (2009).** A potent anti-oxidant property: fluorescent recombinant C-phycocyanin of *Spirulina*, *J. Appl. Microbiol.*, vol. 106, p. 1093-1100

**Gur C.S., Erdogan D.K., Onbasilar I., Atilla P., Cakar N., Gurhan I.D., (2013).** In vitro and in vivo investigations of the wound healing effect of crude *Spirulina* extract and C-

phycocyanin. *J. Medicinal Plants Res.*, vol. 7, p. 425-433.

**Gustafson, K. (1989).** AIDS- Antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae). *Journal of the National Cancer Institute*. Vol. 81(16):1254.

**Hajati H., Mojtaba Z., 2019:** *Spirulina platensis* in Poultry Nutrition, Cambridge Scholar Publishing, Livre, p 20.

**Hélène CRUCHOT :** la spiruline bilan et perspectives. Thèse docteur en pharmacie

**Hetzel, B. et Pandav, C., 1997:** SOS pour un milliard Presses de l'Université d'Oxford, Great Clarendon Street, Oxford.

**Hidalgo ME, Fernandez E, Quilhot W, Lissi E. Phytochemistry 1994;**37:1585.

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/papers/23086307> international biotechnology, Inde, PPP58, 96,97.

**Iwata, et al. (1990).** Effects of spirulina on plasma lipoprotein lipase activity in rats in *Journal Nutr. Sci. Vitaminol*, 36:165-171. Japan.

**Jarisoa, 2005.** Adaptation de la spiruline de sud de Madagascar à la culture en eau de mer.

**JAVANMARDI, J., STUSHNOFF, C., LOCKE, E., VIVANCO, J.M., (2003):** Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83: 549.

**Jayaprakasha GK, Jaganmohan RL. Z Naturforsch [C] 2000;**55:1018.

**Johnson, P. et Shubert, E. (1986).** Availability of iron to rats from *Spirulina*, blue-green algae. *Nutrition Research*. Vol. 6: 85-94.

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

**JORDAN J,2006..** Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal .Publication Antenna Technologies.

**Jordan, 1999** sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospira platensis*) culture,

**Jourdan J.P, 2007.** Manuel de culture de la Spiruline. Antenna Technologie

**JOURDAN J.P. (1996)** "Sugar as a source of carbon for spirulina (*Arthrospiraplatensis*) culture", International symposium on Cyanobacterial biotechnology", Bharathidasan University, Tiruchirapalli, Inde.

**Jourdan J.P., (2011).** « Cultivez votre spiruline » manuelle de culture artisanale de spiruline. 223 p

**Kapoor, R. and Mehta, U., 1993: Iron status and growth of rats fed different dietary iron sources,** *Plant Foods Hum. Nutr.*, V. 44, 29-34

**Kaushik P., Chauhan A., 2008:** In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of *Spirulina platensis*. *Indian J. Microbiol.* 48 :348–352.

**Kent M., Welladsen H.M., Mangott A., Li Y., (2015).** Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PLoS ONE*, vol. 10, n°2.

**Kına, E., Uysal, İ., Mohammed, F.S., Doğan, M., & Sevindik, M. (2021).** In-vitro antioxidant and oxidant properties of *Centaurea rigida*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(10), 1905-1907.

**König, (2007):** Les algues : première lignée végétale. Disponible sur : <http://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/botanique-algues-vegetaux-aquatiques-523/> publié en 2005 modifié en 2015.

**König, C., 06/10/2007 :** Les algues : première lignée végétale [en ligne]. C 06/10/2007.

**Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. P. (2011).** Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different light intensities and temperature. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(3), 1128-1135.

**Kumari R.P., Sivakumar J., Thankappan B., Anbarasu K., (2013).** C-phycoerythrin modulates selenite-induced cataractogenesis in rats. *Biological Trace Element Research* 2013-01-01.

**La spiruline et le cholestérol [Internet]. [cité 22 févr 2018] :** Disponible sur: <https://www.spirulinefrance.fr/bienfaits-spiruline/la-spiruline-et-le-cholesterol>

**Lafri, I., Jemni, M., Bensehaila, S., & Boutekrabt, L. (2017).** ÉVALUATION DES MÉTHODES D'EXTRACTION DE LA PHYCOCYANINE ET SON RENDEMENT À PARTIR DE *SPIRULINA PLATENSIS*. *AgroBiologia*, 7(2), 623-634.

**Lamela, T . et Marquez, F.J.(2000).**Phycocyanin production in seawater culture of *Arthrospira maxima*. *Ciencias marinas*.Vol.26(4) :607-619.

**Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R., (1985).** Detrmination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf in different solvents. *Biol.Soc. Trans.*, vol. 11, p. 591-592.

**Lison, D., De Boeck, M., Verougstraete, V. et Kirsch-Volders, M., 2001:** Update on the genotoxicity and carcinogenicity of cobalt compounds, *Occup. Environ Med.*, V. 58,n°10, , 619-625.

**M'Baye, B.K., LÔ, B.B., and Bassene, E., (2011).** Etude des caroténoïdes, des phycocyanines et des protéines de la spiruline en Mauritanie. ScienceLib Editions Mersenne, 3, (110906). ISSN 2111.4706pp.

**Majeed, M., Majeed, S., Jain, R., Mundkur, L., Rajalakshmi, H. R., Lad, P., & Neupane, P. (2020).** A randomized study to determine the sun protection factor of natural pterostilbene from *Pterocarpus marsupium*. *Cosmetics*, 7(1), 16.

**Manet, A. (2016).** La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. *Sciences pharmaceutiques*, 20-21.

**Manirafasha E., Ndikubwimana T., Zeng X., Lu Y., Jing K., (2016).** Phycobiliprotein: potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochem.Eng. J.*, vol. 109, p. 282-296.

**MARIUS, L., RAKIATOU, T., NOUFOU, O., FELIX, K., ANDRE, T., PIERRE, D., PIERRE, G.I., (2016):** In vitro antioxidant activity and phenolic contents of sifferent fractions of ethanolic extract from *Khaya senegalensis* A.Juss. (Meliaceae) stem barks. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(13): 503.

**Mazo, V.K., 2004:**Microalgaespirulina in human nutrition, *VoprPitan*, V, 45-53

**Melchior, J.C. et Goudet, O., 1997:** Nutrition et infection par le VIH Ed. Masson, Paris.

**Microphit, (2016).** Microalgues : Composés bioactifs d'intérêt. Site web<http://www.microphyt.eu/microalgues/composes-bioactifs-dinteret>.

**MILIAUSKAS, G., VENSKUTONIS, P.R., VAN BEEK, T.A., (2004):** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromativ plant extract. *Journal of Food Elsevier Chemistry*, 85: 233.

**Minkova K.M., Tchernov A.A., Tchorbadjieva M.I., Fournadjieva S.T., Antova R.E.,**

**Busheva M.C., (2003).** Purification of C-phycoyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*. *Journal of Biotechnology*, vol. 102, p.55-59.

**Mohammed, F.S., Kına, E., Sevindik, M., Doğan, M., & Pehlivan, M. (2021).** Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract of *Helianthemum salicifolium* (Cistaceae). *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)[Formerly Natural Product Radiance (NPR)]*, 12(3), 459-462

**Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

**Muhling, M., Somerfield, Harris, N., Belay, A. et Whitton, B. (2006).** Phenotypicanalysis of *Arthrospira (Spirulina)* strains (cyanobacteria). *Phycologia*. Vol. 45 (1): 95-104.

**Murugan T., (2011).** Screening for antifungal and antiviral activity of C-phycoyaninfrom *Spirulina platensis*. *Journal of Pharmacy Research*, vol. 4 Issue 11, p. 41-61.

**NABTI, L.Z., BELHATTAB, R., (2016):** In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. aerial parts. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 4(6): 59-60.

**Neto, D. M., Coër, J., Oliveira, M. C., Alves, J. L., Manach, P. Y., & Menezes, L. F. (2016).** Numerical analysis on the elastic deformation of the tools in sheet metal forming processes. *International Journal of Solids and Structures*, 100, 270-285.

**Nippon Ink & Chemicals., 1977.** "Spirulina". Bull Tech Dye Nippon

**Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagoz, Y., Bayir, Y., & Halici, M. (2005).** Antioxidant activity, reducing power and total phenolic content of some lichen species. *Fitoterapia*, 76(2), 216-219.

**Ou Y., Lin L., Yang X., Pan Q., Cheng X., (2013).** Antidiabetic potential of phycoyanin: Effects on KKAY mice. *Pharm Biol*, vol. 51, n° 5, p. 539-44.

**Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001).** Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4619-4626.

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.

**Pang, Q. S., Guo, B. J. et Ruan, J. H. (1988).** Enhancement of endonuclease activity and repair DNA synthesis by polysaccharide of *Spirulina platensis*. *I-Chuan-Hsueh-Pao* Vol. 15(5) :374-381.

**Patil G., Raghavarao K.S.M.S., (2007).** Aqueous two- phase extraction for purification of C-phycoyanin. *Biochem Eng J.*, vol. 34, p.156.

**Pehlivan, M., Mohammed, F. S., Şabik, A.E., Kına, E., Dogan, M., Yumrutaş, Ö., & Sevindik, M. (2021).** Some Biological activities of ethanol extract of *Marrubium globosum*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(6), 1129-1132.

**Penton-Rol G., Marin-Prida J., Pardo-Andreu G., Martinez-Sanchez G., Acosta-Medina E.F., Valdivia- Acosta A., Lagumersindez-Denis N., Rodriguez-Jimenez E., Llopiz-Arzuaga A., Lopez-Saura P.A., (2011).** C-Phycocyanin is neuroprotective against global cerebral ischemia/reperfusion injury in gerbils, *BrainRes. Bull.*, vol. 86,p. 42-52.

**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).

**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.

**Popovici J, Moreira LA, Poinsignon A. Iturbe-Or-maetxe I.; McNaughton D.; O’Neill S.L.** Assessing key safety concerns of a *Wolbachia*-based strategy to control dengue transmission by *Aedes* mosquitoes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2010; 105:957-964

**Pottcher F. (2014).** *Procédé d'extraction et de stabilisation de phycocyanine et ses applications.* WO 2014045177 A1

**Qishen, P. et Kolman, I. (1989).** Radioprotective effect of extract from *Spirulina* in mouse bone marrow cells studied by using the micronucleus test. *Toxicology Letters.* Vol. 48 :165-169.

**Quillet, M. (1975).** Recherches sur les substances glucidiques élaborées par les spirulines. *Ann Nutr. Aliment.* Vol. 29:553-561.

**Qureshi M. A., Hunter R., 1995:** Proc 44th. Western Poultry Disease Conference, Sacramento, California, p 117- 121.

**Ragusa, I., Nardone, G. N., Zanatta, S., Bertin, W., & Amadio, E. (2021).** Spirulina for skin care: A bright blue future. *Cosmetics*, 8(1), 7.

**Reuters Finbarr O'reilly., 2006:** L'Afrique mise sur l'algue verte pour mieux se nourrir, Le Monde du 05.03.06.

**Richmond A., (2004).** Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phyecology. Blackwell Science Ltd.

**Rito-Palomares M., Nunez L., Amador D., (2001).** Practical application of aqueous two-phase systems for the development of a prototype process for C- phycocyanin recovery from *Spirulina maxima*. *J ChemTechnolBiotechnol*, vol. 76, p.1273-1280.

**Rodríguez-Salgueiro S., Ramírez-Carmenate Z, González-Núñez L., (2017).** An update on potential applications of Spirulina sp. and C-phycocyanin to treat kidney diseases. *Ann Res Antioxid*, vol. 2, n° 1, p.1-7.

**Rodríguez-Sanchez R., Ortiz-Butron R., Blas-Valdivia V., Hernandez-Garcia A., Cano-Europa E., (2012).** [Phycobiliproteins or C-phycocyanin of \*Arthrospira\(Spirulina\) maxima\* protect against HgCl<sub>2</sub>-caused oxidative stress and renal damage.](#) *Food Chem.*, vol.135, p. 2359-2365.

**Romay C., Gonzalez R., Ledon N., Remirez D., Rimbau V., (2003).** C-phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Curr. Protein Pept. Sci.*, vol. 4, p. 207-216.

**Ruiz G., (2005).** Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de Doctorat. Ecole Doctorale Sciences- Technologie-Santé. Faculté des Sciences et Techniques. Université de Limoges. 256p

**Sall, M.G., Dankoko, B., Badiane, M., Ehua, E. et Kuakuwi, N. (1999).** L'aspiruline : une source alimentaire à promouvoir. *Médecine d'Afrique Noire*. Vol. 46 (3): 140-141.

**Santillan, C. (1974).** Cultivation of the *Spirulina* for Human Consumption and for Animal Feed. *International Congress of Food Science and Technology*. Madrid (Spain).

**Sayre, R.M.; Agin, P.P.; LeVee, G.J.; Marlowe, E.A.** comparison of In Vivo and In Vitro testing of sunscreens formulas. *Photochem. Photobiol.* 1979, 29, 559–566.

**Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Mühling, M., Whitton, B. A., ... & Wilmotte, A. (1999).** *Arthrospira* ('Spirulina') strains from four continents are resolved into

only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *FEMS microbiology letters*, 172(2), 213-222.

**Sekli-Belaidi, F. (2011).** *Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3, 4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique: application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

**Shalaby E.A., Shanab S.M.M., (2013).** Antiradical and antioxidant activities of different *Spirulina platensis* extracts against DPPH and ABTS radical assays. *J Mar Biol Oceanogr.*, vol. 2, n°1, p. 1-8.

**Shih C.M., Cheng S.N., Wong C.S., Kuo Y.L., Chou T.C., (2009).** Anti inflammatory and anti hyperalgesic activity of C-phycoyanin, *Anesth. Analg.*, vol. 108, p. 1303- 1310.

**Silva L.A., Kuhn K.R., Moraes C.C., Burkert C.A.V., Kalil S.J., (2009).** Experimental design as a tool for optimization of C-phycoyanin purification by precipitation from *Spirulina platensis*. *J Braz. Chem Soc.*, vol. 20, p. 5-12.

**Strasky Z., Zemankova L., Nemeckova I., Rathouska J., Wong R.J., Muchova L., Subhanova I., Vanikova J., Vanova K., Vitek L., (2013).** *Spirulina platensis* and phycocyanobilin activate atheroprotective heme oxygenase-1: a possible implication for atherogenesis, *Food Funct.*, vol. 4, p. 1586-1594

**Takai et al. (1991).** Effect of water soluble and water insoluble fractions of spirulina over serum lipids and glucose resistance of rats in *J. Japan Soc. Nutr. Food Science*, 44:273-277

**Tandeau de Marsac, N. (1983).** Phycobilisomes and complementary chromatic adaptation in cyanobacteria. *Bulletin de L'Institut Pasteur*, 81(3), 201-254.

**Thomas J.C., (1989).** L'antenne collectrice d'énergie lumineuse à phycobiliprotéines chez les Cyanobactéries, *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, vol. 136, n°1, p. 31-49, DOI:10.1080/01811789.1989.1082691

**Valdés, L.C.,A.; Salazar, N.; Ruas-Madiedo, P.; Gueimonde, M.; González, S. (2015).** The relationship between phenolic compounds from diet and microbiota: impact on human health. *Food & Function*, 6, 2424-2439. <https://doi.org/10.1039/C5FO00322A>

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

**vonshak ,A.(Ed).(1997).** *Spirulina platensis arthrospira* :physiology, cell-biology and biotechnology.CRC press.

**Walter A., Cesar de Carvalho J., Vanete T.S., Ana B.B. de Faria, Ghiggi V., Soccol C.R., (2011).** Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, vol.54, n°4, p. 675-682.

**Yang, S.I.; Liu, S.; Brooks, G.J.; Lanctot, Y.; Gruber, J.V.** Reliable and simple spectrophotometric determination of sun protection factor: A case study using organic UV filter-based sunscreen products. *J. Cosmet. Derm.* 2018, 17, 518–522.

**YEO, S.O., GUESSENND, K.N., MEITE, S., OUETTARA, K., BAHI GNOGBO, A., N'GUESSAN, J.D., COULBALY, A., (2014):** In vitro antioxidant activity of extracts of the root *Cochlospermum planchonii* Hook. Fex Planch (Cochlospermaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4): 167.

**Yi, M., Wu, P., Trevorrow, K. W., Claflin, L., & Garrard, W. T. (1999).** Evidence that the Igk gene MAR regulates the probability of premature VJ joining and somatic hypermutation. *The Journal of Immunology*, 162(10), 6029-6039.

**YORDII, E., PÉREZ, E., MATOS, M., VILLARES, E., (2012):** Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Polyphenolic Compounds and Structure-Activity Relationship Evidence. *Nutrition, Well - Being and Health, In Tech*, ISBN 978-953-51-0125-3.

**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

**Zarrouk, C. (1966).** Contribution to the study of aCyanophyceae. Influence of various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima* (Setch. and Gardner) Geitler. Ph.D Thesis. France. University of Paris. [En ligne].



*Annexes*

Annexe I

Matériel utilisé au laboratoire



Centrifugeuse



Balance de précision



Balance analytique



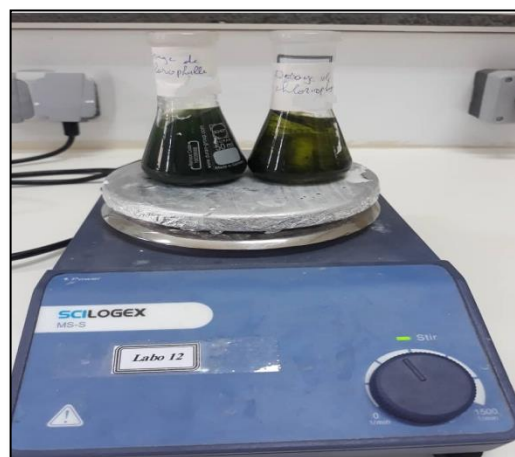
Spectrophotomètre



Bain marie



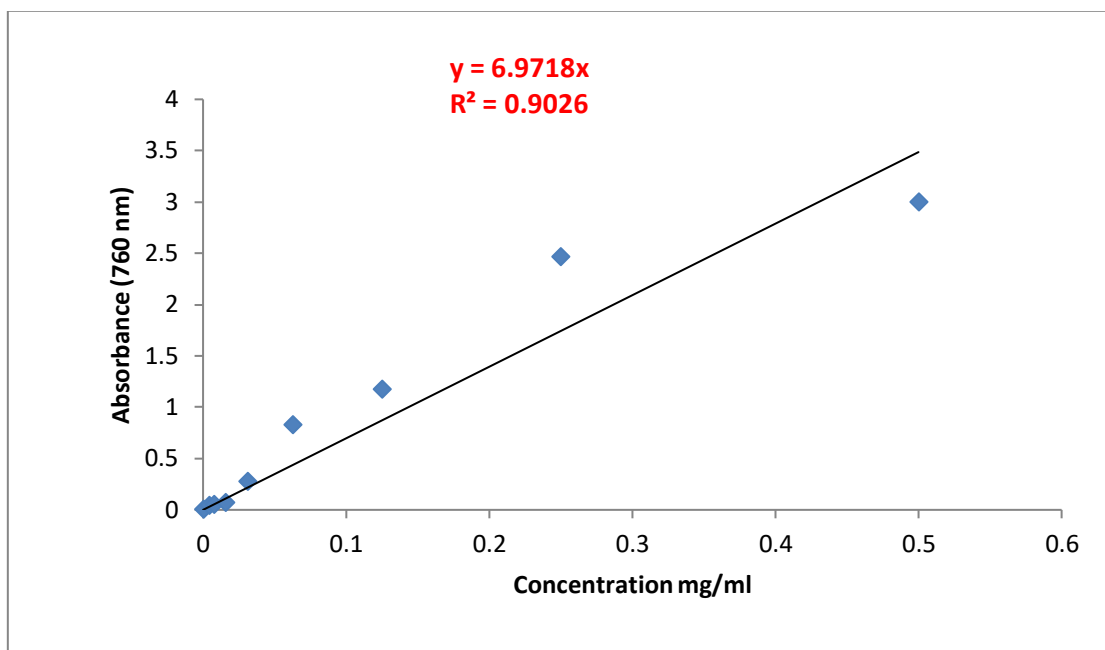
Etuve



Ultrason

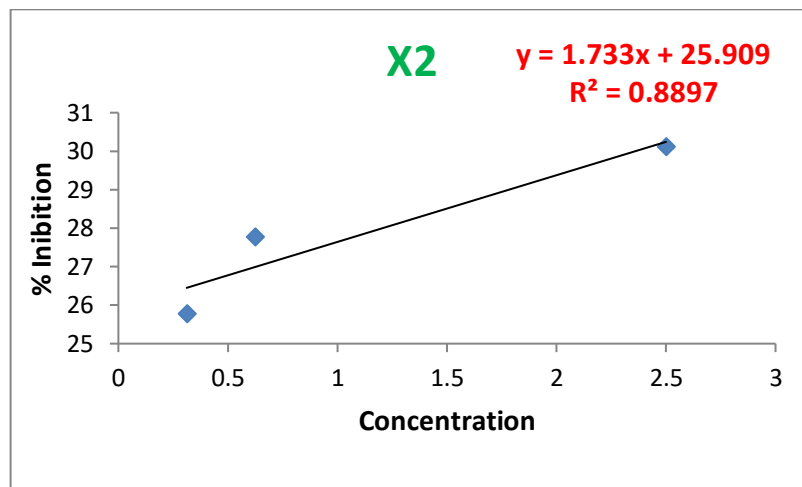
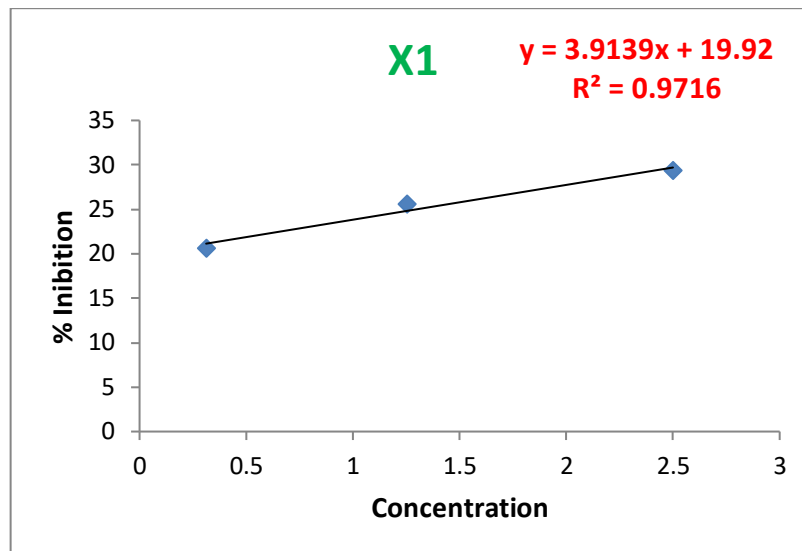
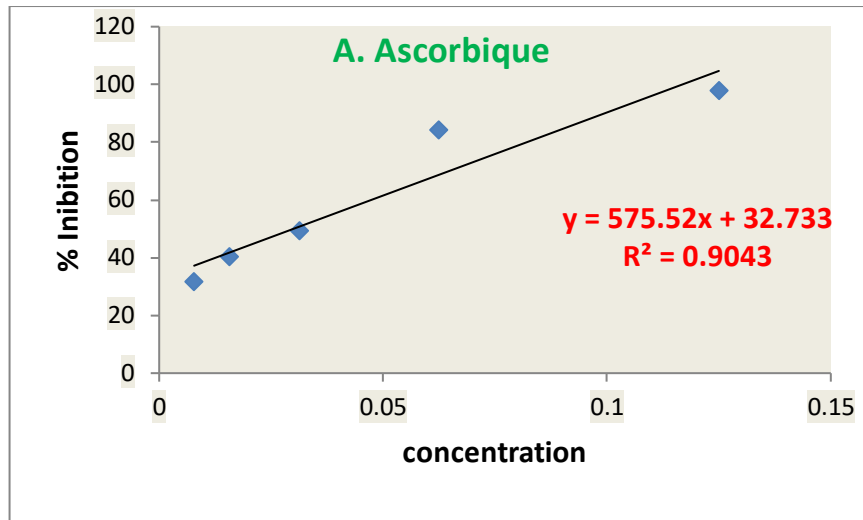
Agitateur

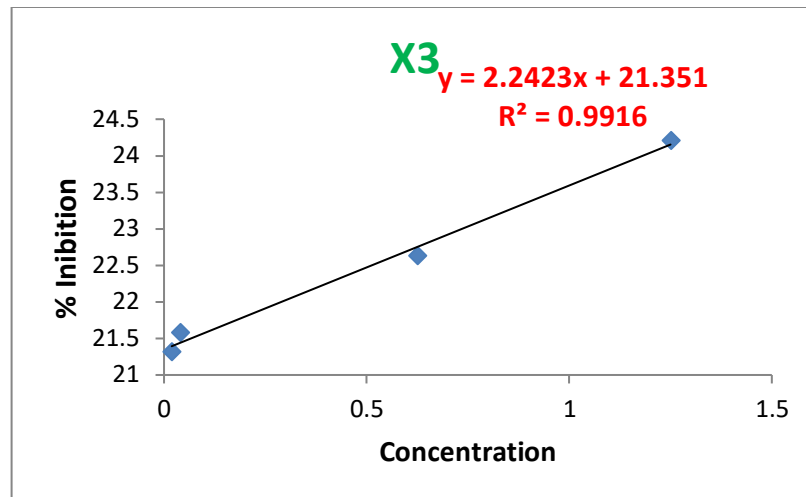
## Annexe II



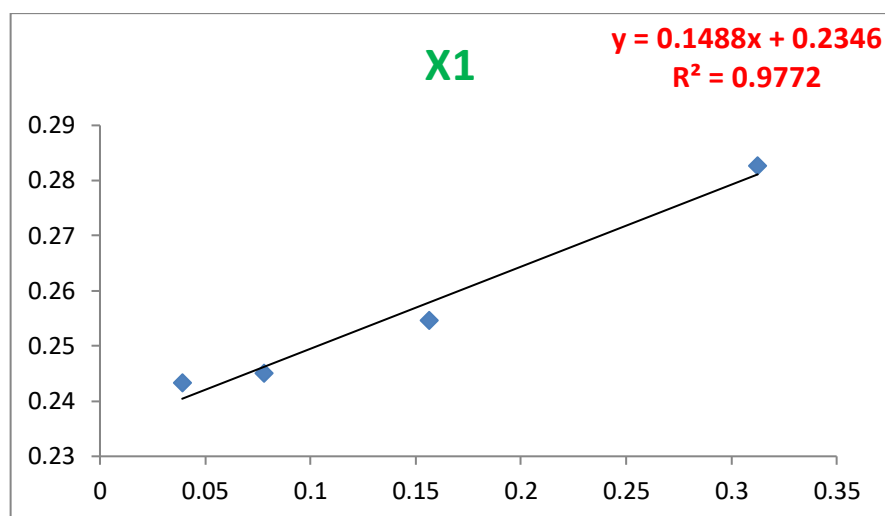
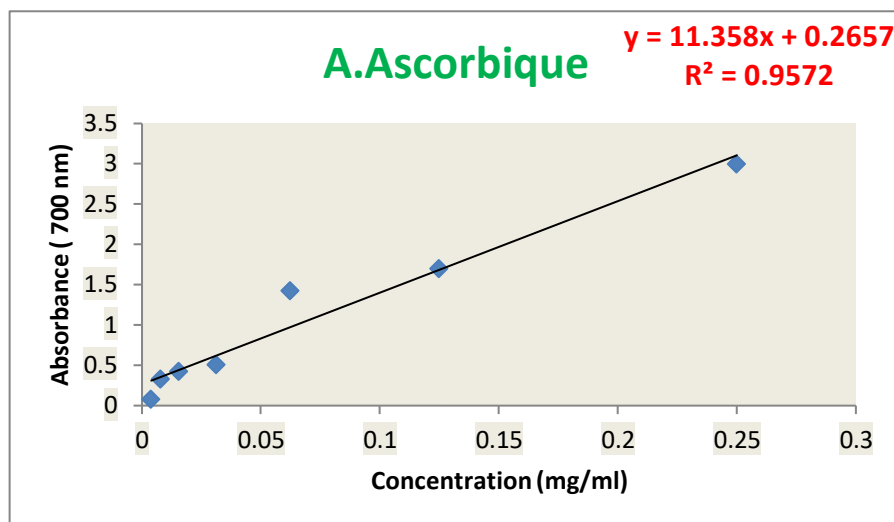
Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

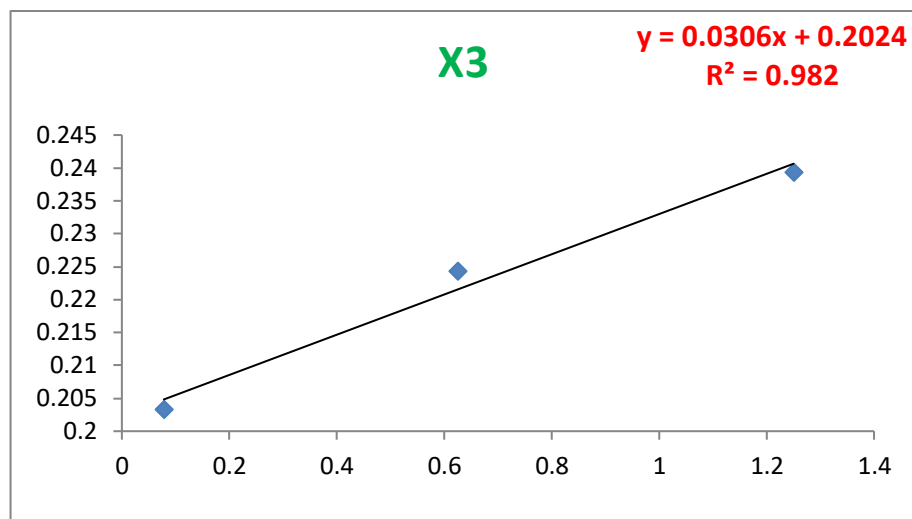
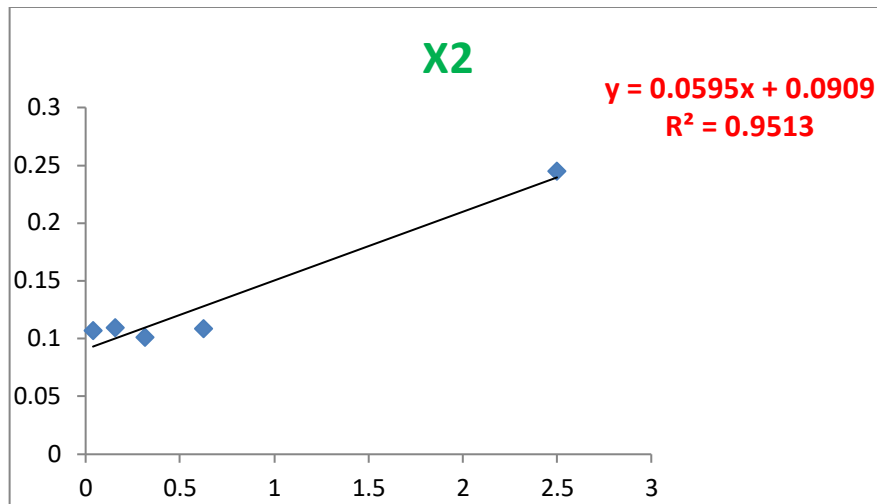
## Annexe III





Les courbe %50 d'inhibition (I) pour l'acide ascorbique et les extraits de spiruline X1, X2 et X3.





**Les courbes d'absorbance des extraits de spiruline testés pour le FRAP.**

## Annexe IV

## Les valeurs de la constante détermination du SPF de 90 % de phycocyanine.

Longueur d'onde $\lambda$ (nm)	EE ( $\lambda$ ) $\times$ I ( $\lambda$ ) (Constante)	Absorbance ( $\lambda$ ) (X1, X2 et X3)			EE ( $\lambda$ ) $\times$ I ( $\lambda$ ) $\times$ ABS ( $\lambda$ ) (X1, X2 et X3)		
290	0.015	0.227 $\pm$ 0.001	0.371 $\pm$ 0.0005	0.881 $\pm$ 0.004	0.003 $\pm$ 0.00001	0.005 $\pm$ 0.00001	0.013 $\pm$ 0.0006
295	0.0817	0.183 $\pm$ 0.001	0.371 $\pm$ 0.0005	0.834 $\pm$ 0.001	0.014 $\pm$ 0.00008	0.03 $\pm$ 0.00004	0.068 $\pm$ 0.0008
300	0.2874	0.142 $\pm$ 0	0.372 $\pm$ 0.0005	0.780 $\pm$ 0.0005	0.04 $\pm$ 0	0.106 $\pm$ 0.0001	0.224 $\pm$ 0.001
305	0.3278	0.096 $\pm$ 0	0.357 $\pm$ 0	0.731 $\pm$ 0	0.031 $\pm$ 0	0.117 $\pm$ 0	0.239 $\pm$ 0
310	0.1864	0.062 $\pm$ 0.0005	0.342 $\pm$ 0	0.697 $\pm$ 0	0.011 $\pm$ 0.0001	0.063 $\pm$ 0	0.129 $\pm$ 0
315	0.0839	0.054 $\pm$ 0	0.328 $\pm$ 0.0005	0.675 $\pm$ 0	0.004 $\pm$ 0	0.027 $\pm$ 0.0004	0.056 $\pm$ 0
320	0.018	0.068 $\pm$ 0	0.323 $\pm$ 0.0005	0.664 $\pm$ 0	0.001 $\pm$ 0	0.005 $\pm$ 0.00001	0.011 $\pm$ 0

EE ( $\lambda$ ) = spectre d'effet érythémal ; I ( $\lambda$ ) = spectre d'intensité solaire ; ABS ( $\lambda$ ) = absorbance du matériau d'essai ;

CF = facteur de correction (-10). Le SPF a été déterminé dans trois expériences.

La valeur SPF moyenne  $\pm$  écart type.

X1: EE ( $\lambda$ )  $\times$  I ( $\lambda$ )  $\times$  ABS ( $\lambda$ ) = 0,104  $\pm$  0, 0001

X2: EE ( $\lambda$ )  $\times$  I ( $\lambda$ )  $\times$  ABS ( $\lambda$ ) = 0,353  $\pm$  0, 0005

X3: EE ( $\lambda$ )  $\times$  I ( $\lambda$ )  $\times$  ABS ( $\lambda$ ) = 0, 74  $\pm$  0, 0002