



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 à l'activité biologique des extrait éthanolique et
méthanolique de microalgue (spiruline)

Présenté par :

LAHCINI Zohra

ACHAB Siham

DAHNOUN Kaouther

Devant le jury composé de :

Président : ZEGHIB Khaoula

M.A.B, Université d'El Oued.

Examineur : BOURAS Biya

M.A.A, Université d'El Oued.

Promotrice: KIRAM Aberrazak

M.A.A, Université d'El Oued

- Année universitaire 2021/2022 -



Remerciements

Je remercie tout d'abord Le Plus Puissant **ALLAH**

le tout puissant de m'avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de m'avoir donné la
volonté et le courage d'élaborer ce travail


Toutes les expressions de l'estime et de gratitude du monde sont insuffisantes pour exprimer
nos remerciements à nos parents qui nous ont accompagnés tout au long de notre étude.

Au terme de ce travail nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements à notre
promoteur **Dr: KIRAM Abderzaek** pour avoir accepté l'encadrement de ce travail, sa
générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de nous avoir fait confiance tout
au long de la préparation de ce travail, qu'elle trouve ici toute mes grâces

Nous remercions tous les membres de jury (Dr **ZEGHIB Khaoula et Dr BOURAS Biya**
) qui ont accepté de juger notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous les enseignants et tous les responsables de la
faculté de sciences de la nature et la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar El Oued

Une grande pensée pour tous mes amis (es) qui m'ont soutenue au cours de ces années. Enfin,
je remercie toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste
travail



امحاء

بسم الله الرحمن الرحيم.

الى من بلغ الرسالة وادى الأمانة... ونصح الأمة

إلى نبي الرحمة... سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى من كلله الله بالطيبة والوقار... إلى من علمني العطاء دون انتظار

إلى من أحمل اسمه بكل افتخار... إلى القلب الكبير

والذي العزيز " محمد " أطال الله في عمره

إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي

إلى بسملة الحياة وسر الوجود

امي الحبيبة "فتيحة" أطال الله في عمرك

إلى روح جدتي الطاهرة رحمها الله الراحلة عن الحياة الباقية في القلب " خديجة "

إلى من عرفت معهم طعم الحياة..... اخوتي

أمال, عنتر, سامية, يونس, وائل, فرح

إلى من تقاسموا معي تعب هذه المذكرة

سهام, كوثر

إلى رفيقات دربي..... صديقاتي

خلود, سلاف, كنزة, الهام, جهان, سلسبيل, صابيرة.

إلى خطيبي الغالي " صادق " وعائلته الكريمة .

إلى من يعود له الفضل في هذا العمل استاذي " عبد الرزاق كرام "

زهراء

امحاء

الحمد لله عزوجل على توفيقه واحسانه لنا بإتمام هذه المذكرة المتواضعة ,
والصلاة والسلام على مبعوث رحمة للعالمين سيدنا محمد وصحبه الاخيار

اهدي هذا العمل الى صاحب السيرة العطرة والفكر المستنير

الذي كان له الفضل الاول في بلوغي ما انا عليه الان ابي الغالي (جموعي) حفظه الله ,
الى من وضعتني في طريق النجاح الى من سهرت لاجلي امي الحبيبة (عيدة) .

الى اخوتي من كان لهم بالغ الاثر في كثير من العقبات

والصعاب (عبد الحميد , عبد الله , قصي , صباح , هناء, زهرة)

والبراعم (مهدية ومحمد ومبارك)

والى من تقاسمو معي تعب هذه المذكرة زهرة , كوثر وكل رفيفات الدرب والى جميع

اساتذتي الكرام .

سهام



اهداء

اهدي هذا العمل المتواضع إلى من اوصاني بعد ربي خيرا بهما إلى من كانا سنداً وعونا

دائماً لي ابي الغالي وامي الحنونة الى زوجي العزيز الذي كان سنداً كبير في مشوار

مذكرتي لكل العائلة الكريمة من اخوتي وأخي إلى صديقات العمر اللاتي قاسمنني لحظاته

الحلوة والمرّة لمياء .سهام .خلود .جيهان سلسبيل اسماء .سلاف

الى جميع دفعة 2017 إلى استاذي ومشرف مذكرتي كرام عبد الرزاق

كوثر



Résumé

Ce travail vise à étudier la spiruline cultivée dans deux régions différentes (Aures X1 ; Tamanrasset X2), en comparant la composition de l'extrait EOH et MOH et leur activité antioxydante, la détection des métabolites secondaires et le dosage des polyphénols et des activités biologiques. Le screening chimique a abouti à la présence de saponines, de flavonoïdes et de phénols pour les spirulines X1 et X2, et à l'absence d'alcaloïdes et d'anthocyanes. Le rendement de l'extrait EOH dans X1(18.40%) et dans X2(13.80%), est supérieur à celui de l'extrait MOH pour les deux spirulines, et pour la mesure de teneur en polyphénols on a obtenu une teneur en phénol égale (12.54 mg) à MOH, dans la spiruline X1 supérieure à celle de la spiruline X2(2.95) à EOH, et pour la mesure de teneur en flavonoïde on a montré que les résultats mesurés de la teneur en flavonoïde sont similaires entre X1(1.56 mg) à MOH et X2 (0.05mg) à EOH. En estimant l'activité antioxydante à l'aide du test de piégeage du radical libre DPPH et le test de réduction de FRAP, les résultats du test DPPH ont montré la supériorité de l'extrait MOH(74.75%) sur l'extrait EOH(69.93%) et dans le test FRAP le résultat était similaire, que l'extrait MOH (78%) et l'extrait EOH(77%).

Les mots clé : *Arthrospira platensis*, DPPH, FRAP, extrait méthanolique, extrait éthanolique.

Abstract

This work aims to study spirulina grown in two different regions X1 and X2, by comparing the composition of EOH and MOH extracts and their antioxidant activity, the detection of secondary metabolites and the assay of polyphenols and biological activities. The chemical screening resulted in the presence of saponins, flavonoids and phenols for spirulina X1 and X2, and the absence of alkaloids and anthocyanins, The yield of the EOH extract in X1 (18.40%) and in X2 (13.80%), is higher than that of the MOH extract for the two spirulina, and for The musser of tenure on polyphenols is obtained, a tenure on phenol is equal (12.54 mg) to MOH, in spirulina X1 higher than that of spirulina X(2.95) at EOH, and for the flavonoid tenure musser showed that the flavonoid tenure musser results are similar between X1(1.56mg) at MOH and X2 (0.05mg) at EOH. By estimating the antioxidant activity using the FRAP and DPPH free radical inhibition test, the results of the DPPH test showed the superiority of the MOH extract (74.75%) over the EOH extract (69.93%). and in the FRAP test the results were similar to the MOH extract (78%) and the EOH extract (77%).

Keywords :*Arthrosphira Platansis* DPPH, FRAP, , MOH(methanolic) ,EOH(ethanolic). Algeria

ملخص

يهدف هذا العمل الى دراسة ,سيبرولينا من منطقتين مختلفتين x1 x2 وذلك من خلال المقارنة بين المستخلصات الايثانولية و الميثانولية ,وتتضمن هذه الدراسة الكشف على مواد الايض الثانوي و عديدات الفينول , والنشاطات البيولوجية . اسفر الكشف الكيميائي عن وجود الصابونيات والفلافونويدات و الفينول لكلا سيبرولينا x1 x2 , وغياب الفلويديات و الانثوسينات. اما بالنسبة للمردود فإن مردود المستخلص الإيثانولي في x1 (18.40%) وفي X2(13.80%) اكبر من مردود المستخلص الميثانولي فيX1 و X2 . وفي التقدير الكمي لعديد الفينول ,بالنسبة للفينولات تفوقت سيبرولينا (12.54mg) على x1 (7.98mg) X2, اما بالنسبة للفلافينويدات فكانت النتائج متقاربة ايضا في x1 (1.52mg) و x2(0.05mg).ومن خلال دراسة النشاطات المضادة للأكسدة بإستخدام القدرة الإرجاعية للحديد FRAP ,واختبار تثبيت الجذر الحر DPPH ,اظهرت النتائج في اختبار DPPH ان المستخلص الميثانولي (74.75%) تفوق على المستخلص الايثانولي (69.9%) , وفي اختبار FRAP كانت النتائج متقاربة فبالنسبة للمستخلص الميثانولي (78%) و المستخلص الايثانولي (77%)

الكلمات المفتاحية: سيبرولينا, FRAP, DPPH , مستخلص ميثانولي ,مستخلص ايثانولي , الجزائر

Liste des figures

N	Titre	Page
1	Spiruline en microscope	5
2	Morphologie de spiruline	6
3	Ultrastructure de <i>S. Platensis</i> en microscope	7
4	Cycle biologique	8
5	Composition chimique de la spiruline	16
6	Bilan de la photosynthèse au niveau de la spiruline	17
7	Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH	37
8	Le rendement des extraits éthanolique et méthanolique	44
9	Courbe étalon d'acide gallique pour le dosage des polyphénols pour extrait éthanolique	45
10	Courbe étalon d'acide gallique pour le dosage des polyphénols pour extrait méthanolique	46
11	Teneurs en polyphénols des deux extraits de deux spirulines X1 et X2	46
12	Courbe standard de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique	47
13	Teneurs en flavonoïdes des deux extraits de deux spirulines X1 et X2 .	48
14	Courbe pour une solution éthanolique certifiée de DPPH	48
15	Courbe pour une solution MOH certifiée de DPPH.	49
16	Pourcentage d'inhibition de radicaux libres DPPH	50
17	Valeurs IC50 inhibitrices pour 50% de réduction de DPPH pour les extraits éthanolique et méthanolique, l'acide ascorbique et α -tocophérol	50
18	Courbe de l'acide ascorbique dans le FRAP.	51

Liste des tableaux

n	Titre	Page
01	Composition des Glucide	17
02	Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de trois espèces de spiruline	18
03	Teneur en acides nucléique	19
04	Composition des minéraux	20
05	Composition des pigment	22
06	Matériels, solutions, réactifs et les appareils usagés en macération méthanolique et éthanolique	30
07	En estimant les composés phénoliques, nous avons utilisé des dosage	30
08	Les solutions , les mitrailles , les appareilles utilisé dans la activité antioxydante	31
09	Résultats du screening phytochimique de spiruline	40
10	Les résultats des extraits de rendement des extraits étudiés	43

Liste des Abréviation

- _AA: Acide Ascorbique (Vitamine C).
- _Abs contrôle: Absorbance de Solution son extrait.
- _Abs échantillon: Absorbance de Solution avec extrait
- _Ac: Absorbance de Contrôle.
- _AlCl₃: Trichlorure d'Aluminium.
- _As: Absorbance de DPPH avec l'échantillon.
- _DMSO : Dimethyl sulfoxide
- _DPPH : 2,2'Diphenyl-1-picrylhdrazyl.
- _ EOH : Extrait éthanolique.
- _ FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power
- _ I %: Pourcentage d'Inhibition.
- _ IC₅₀ : Inihibion concentration 50%.
- _ Mg EAG/g ME: Milligramme Equivalent Acide Gallique sur Gramme des Matières d'Extraits
- _ MM: Macération.
- _ R %: Pourcentage de Rendement
- _TCA: Trichloroacetic Acid.
- _ MOH: Extrait méthanolique.

Sommaire

Remerciements	
اهداء	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
liste des abrivation	
Introduction	
Partie Bibliographie	
Chapitre I	
Généralité sur spiruline	
I.1. Définition de la spiruline	5
I.2. Taxonomie	5
I.3. Morphologie de spiruline.....	6
I.4. Ultra structure	7
I.5. Cycle biologique	8
I.6. Ecologie	8
I.7. Condition de la croissance de la spiruline	9
I.7.1. Effet de la lumière sur la croissance de la spiruline.....	10
I.7.2. Effet de la source de N sur la spiruline	10
I.8. Applications principales de la spiruline	10
I.8.1. En alimentation humaine	10
I.8.2. En cosmétique.....	11
I.8.3. En médecine.....	12
Chapitre II	14
Biochimie de spiruline	14
II.1. Photosynthèse	15
II.1.1. Phase photochimique.....	15

II.1.2. Phase d'assimilation de CO ₂	15
II.2. Composition biochimique de la spiruline	16
II.2.1. Protéine.....	17
II.2.2 Glucides	18
II.2.3 Lipide.....	18
II.2.3.1 Taux lipide.....	18
II.1.1.2 Acide gras	19
II.1.4. Acides nucléiques	20
II.1.5. Vitamine	20
II.1.6. Minéraux.....	20
II.3. Métabolite secondaire.....	21
II.3.1. Composés phénoliques	21
II.3.2. Flavonoïdes.....	22
II.3.3. Alcaloïdes	22
II.3.4. Terpénoïdes	22
II.3.5. Pigment.....	23
Chapitre III	24
Activité Biologique de spiruline	24
III.1. Activité Antioxydante	25
III.2. Activité antimicrobienne	25
III.3. Activité anti-inflammatoire	25
III.1.4 Activité anticancéreuse	26
III.1.5 Activité antivirale.....	27

Partie pratique

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Matériels	30
I.1.1. Matériels biologique	30
I.1.2. Matériels utilisés	30
I.1.2.1. Screening chimique.....	30
I.1.2.2 Extraction.....	30
I.1. 2.4. L'étude de l'activité biologique de la spiruline	32
I.2. Méthodes.....	32

I.2.1. Screening chimique.....	32
I.2.1.1 Flavonoïdes	32
I.2.1.2 Tanins.....	33
I.2.1.3 Composés réducteurs	33
I.2.1.4 Saponosides	33
I.2.1.5. Anthocyanes.....	33
I.2.1.6 Alcaloïdes	34
I.2.1.7 Triterpènes	34
I.2.2. Extraction.....	34
I.2.2.1. Macération méthanolique	34
I.2.2.2. Macération éthanolique.....	34
I.2.2.3. Rendement des macérations.....	35
I.2.3. Dosage des composés phénoliques	35
I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	35
I.2.3.2. Dosage des Flavonoïde	36
I.3. Etude de l'activité biologique de la spiruline	36
I.2.4. Activité antioxydante	36
I.2.4.1 DPPH●.....	36
I.2.4.2. FRAP	38

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1 Résultat de screening chimique	41
II.2. Rendement de macération	43
II.3. Dosage des polyphénols totaux	45
II.3.1. Dosage des composés phénoliques.....	45
II.3.2. Dosage des Flavonoïde.....	47
II.4. Activité antioxydante.....	49
II.4.1. DPPH	49
Références	57
Annexes.....	62

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques sont des organismes photosynthétiques riches en métabolites primaires (lipide, carbohydrate) et métabolites secondaires (phénol, flavonoïde, tanine), leurs compositions biochimiques varient selon l'espèce utilisée et les conditions climatiques, elles sont utilisées comme remède pour guérir plusieurs maladies, les plantes les plus utilisées sont les plantes supérieures comme menthe et thé, mais il existe aussi les plantes inférieures dans différentes applications alimentaires et dans le domaine de la santé comme les champignons et les microalgues.

Les microalgues, sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO_2) en un ensemble de produits organiques. On utilise le terme « micro » car la taille d'une microalgue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres (Dejoye C., 2013).

Les microalgues sont utilisées par l'homme depuis des centaines d'années comme nourriture, fourrage, remèdes et engrais. Les premières traces d'utilisation d'algues remontent à 13 000 ans au Chili, ont été retrouvées dans des foyers et des artefacts de pierre situés dans les restes de huttes domestiques sur le site archéologique du Monte Verde au sud du Chili. Toutes les algues sont comestibles et ont d'importantes propriétés médicinales, parmi ces algues spiruline.

La spiruline, dite "microalgue bleu-vert" de forme spiralée qui pousse et vit dans les lacs salés et les océans, a été découverte par le monde comme calmant en 1962. Elle est capable d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse et pour la production d'oxygène. Elle est reconnue comme l'un des aliments les plus nutritifs de la planète,

Dans le monde l'utilisation de la spiruline dans des différents domaines alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. récemment la spiruline est adoptée par l'OMS dans un projet de la cultiver et la multiplier pour les populations sous-alimentées.

En Algérie, la première ferme a été à Tamenrasset elle cultive la spiruline traditionnellement, cette spiruline est utilisée à des fins alimentaire, il était utilisé aussi bien en cuisine qu'en couscous.

A cette raison, ya-t-il différent de l'activité biologique entre les spiruline (*Arthrospira platensis*) cultivées en Algérie ? étude,est –ce qu'elle les même composition de métabolite secondaire ?

Le but de nos travaux est de détecter les métabolites secondaires de la spiruline, d'étudier les activités biologiques et d'apprendre la différence entre la spiruline.

Le présent travail est subdivisé en deux parties:

La première partie (partie théorique) est constituée par trois chapitres, Chapitre I:

Généralité sur la spiruline , Chapitre II: la biochimie de la spiruline ,Chapitre III: l'activité biologique de spiruline .La deuxième partie (partie pratique) avec deux chapitres, Chapitre I: la présentation des matériels et méthodes utilisées , Chapitre II: résultats et discussion .

Enfin les conclusions essentielles sur l'ensemble de ce travail ainsi que les perspectives de sa continuité seront dégagées.

Partie

Bibliographie

Chapitre I

Généralité sur spiruline

I.1. Définition de la spiruline

La spiruline est une microalgue bleu-vert photosynthétique, filamenteuse et multicellulaire qui pousse dans une large gamme d'eau douce, marine et saumâtre. Il pousse bien dans un environnement hautement alcalin de pH 10-12 (**Marrez1,al2018**) C'est un organisme procaryote qui partage avec les plantes la capacité d'effectuer de la photosynthèse. À partir de composés minéraux, d'eau, et de l'énergie lumineuse captée grâce à leur chlorophylle, elles transforment le gaz carbonique et dégagent l'oxygène (**Ahounon ,2018**) ils sont apparues sur terre il y a environ 3,5 milliards d'années. On estime que ce sont ces algues qui, durant un autre milliard d'années, jusqu'à l'apparition de la première plante, ont assuré la photosynthèse sur notre planète, agissant ainsi sur le phénomène de la régulation atmosphérique .(**Choopani , 2017**).



Figure 01:spiruline en microscope (J.P. Jourdan, 2013)

I.2. Taxonomie

La Spiruline est une cyanobactérie (anciennement désignée par le terme « algue bleue » puis cyanophycée). Elle appartient donc au domaine des bactéries (*Bacteria*) et se classe parmi les bactéries gram négatives. Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène et peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires.(**Loïc Charpy,al 2018**)

La spiruline est classée

_Règne : Monera

_Group ou Sous Règne :Procaryotes

- _ **Embranchement:** Cyanophyta
- _ **Class :** Cyanophyceae
- _ **Ordre:** Nostocales (Oscillatoriales)
- _ **Famille:** Oscillatoriaceae
- _ **Genre :** Oscillatoria
- _ **Sous genre:** Spiruline
- _ **Espèces :** *Arthrospira platensis* (BENAHMED, 2012).

I.3. Morphologie de spiruline

La longueur moyenne de la spiruline est de 250 micromètres lorsqu'elle comporte 7 spires. Il est constitué de filaments mobiles (10 à 12 µm de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales (Bsnehila ,2015)

La principale caractéristique morphologique d'Arthrospira est la disposition typique de sa forme cylindrique multicellulaire en forme de Hélice généralement ouverte avec un diamètre relativement grand, parfois Mince aux extrémités et avec des parois transversales claires. En revanche, la spiruline a une forme tendue trichome, généralement fermé, uniforme et étroit Diamètre de la vis (0,5 - 3 m), généralement des cellules à parois transversales Invisible au microscope optique, sans trou de gaz et avec Grains proéminents (Claudio, Giuseppe) .On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites (Bsnehila ,2015)

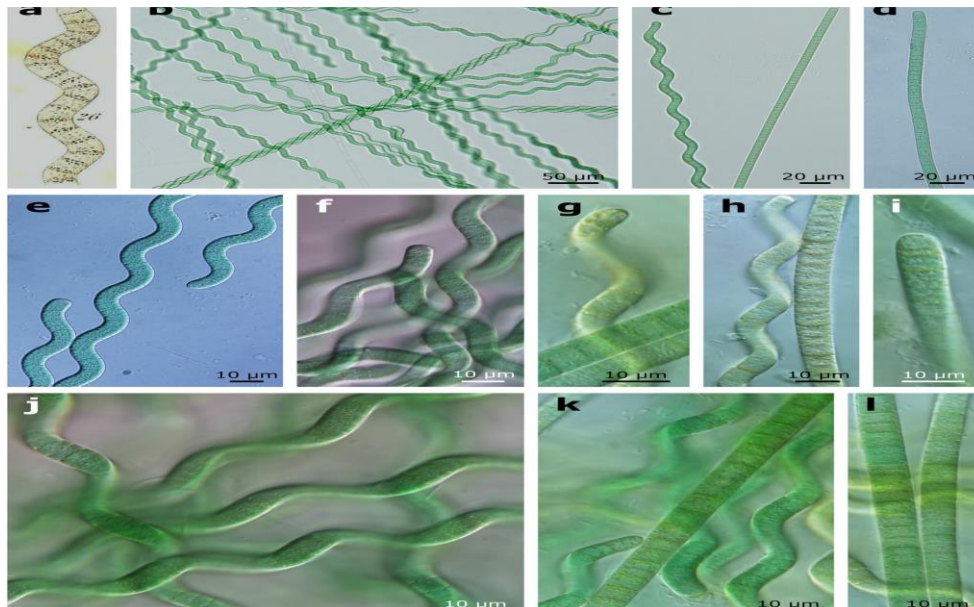


Figure 02: Morphologie de spiruline (Nowicka et al., 2019).

I.4. Ultra structure

L'organisation cellulaire et d'*A. platensis*, observée en microscopie électronique, est typique de celui des organismes procaryotes, étant dépourvu d'une morphologie limitée noyau et des plastes et présentant une enveloppe externe de type gram-négatif (Vonshak, 1998)

La largeur des trichomes varie de 6 à 12 μm , et est composé de cellules cylindriques. L'hélice diamètre varie de 30 à 70 μm ; la longueur du trichome est d'environ 500 μm , paroi cellulaire Les trichomes sont entourés d'une fine gaine diffuse. La gaine a une épaisseur d'environ 0,5 μm et a une structure fibrillaire en forme de filet Le matériau de la gaine, excrété par les pores assis sur la paroi cellulaire, a été pensé être impliqué dans le mouvement du filament La paroi cellulaire multicouche est mince, environ 40 à 60 nm, et a une structure facilement détectable. couche dense aux électrons correspondant au peptidoglycane . Le régulier des parois transversales espacées qui divisent le trichome en cellules, reliées par des plasmodesmes, sont formés par la croissance centripète et l'extension du peptidoglycane et du couche plus interne de la paroi cellulaire vers le centre de la cellule (Martba, 2003)

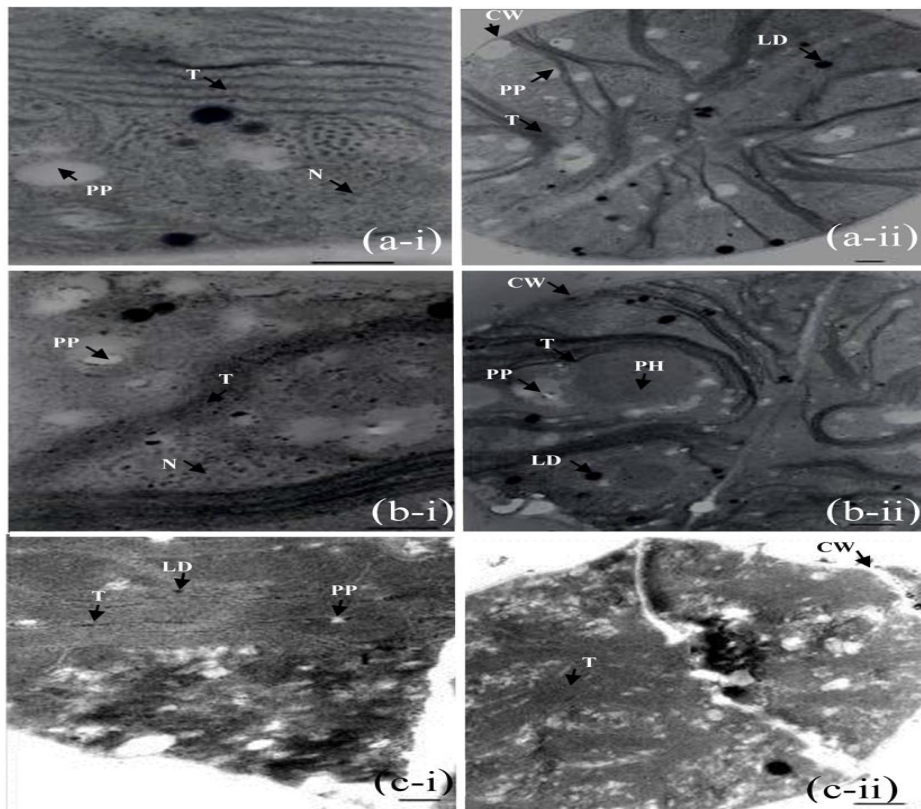


Figure 03 : Ultrastructure de *S. platensis* en microscope (Motham, 2012)

I.5. Cycle biologique

Un aspect fondamental de la biologie de la Spiruline est son cycle de vie en raison de la taxonomie, implications physiologiques et de culture. Cette périodese résume en trois étapes fondamentales: fragmentation des trichomes, cellules d'hormogonie les processus d'élargissement et de maturation, et allongement des trichomes. Les trichomes matures sont divisé en plusieurs petits filaments ou hormogonie par la formation antérieure de cellules spécialisées, les cellules de nécridium, dans lesquellesle matériel cellulaire est réabsorbé permettant fragmentation. Le nombre de cellules dans le les hormogonies sont augmentées par la fission binaire. Pour ce processus, les trichomes poussent dans le sens de la longueur et prend leur forro hélicoïdal (**Martba ,2003**)

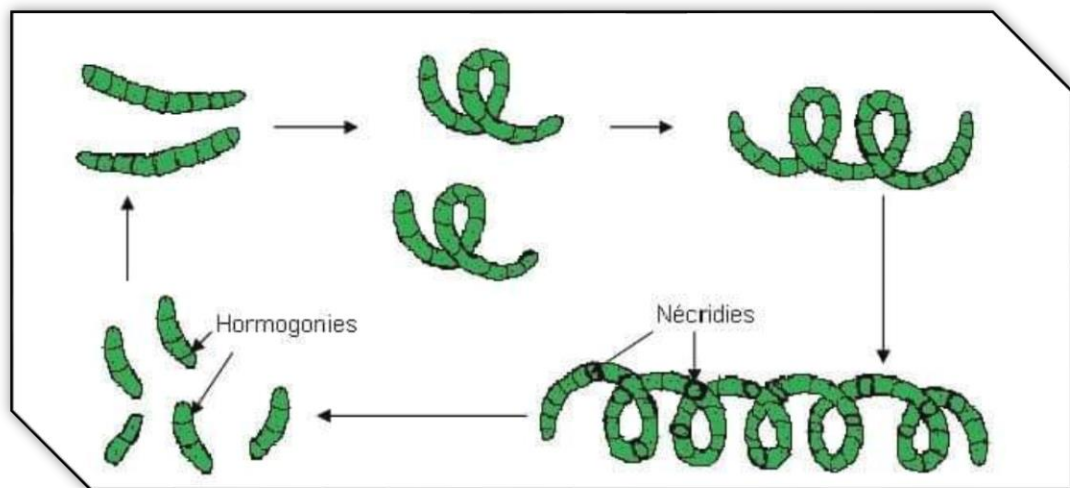


Figure 04: cycle biologique de la spiruline (**Loïc Charpy,al 2008**)

I.6. Ecologie

Les Cyanobactéries sont, avec les bactéries, les êtres les plus anciens. Dès le Dévonien moyen, on trouve des Stigonématales typiques avec une organisation complexe et des hétérocystes différenciés. Mais des formes plus simples rappelant les Oscillaires ont été signalées dans le Précambrien des États Unis, remontant à deux milliards d'années.

À cette ancienneté géologique s'ajoute une extrême plasticité écologique qui fait que les Cyanobactéries se rencontrent en tout lieu et en tout pays. Elles peuplent aussi bien les neiges et les glaces des pôles et des montagnes que les eaux thermales les plus chaudes. On les trouve aussi bien dans les sables des déserts que sur les parois des montagnes où elles subsistent sans dommage froid extrême, insolation et sécheresse. Elles croissent en mer

comme en eau douce, dans les lagunes sursalées ou les marais salants. Elles peuvent perforer les coquilles calcaires, carier les rochers (galets sculptés du lac d'Annecy) ou, au contraire, édifier des tufs. Les Cyanobactéries peuvent vivre dans les eaux polluées ou les vases riches en hydrogène sulfuré. Ainsi *Oscillatoria rubescens* est un excellent indicateur biologique qui apparaît et forme des fleurs d'eau de couleur rouge, très spectaculaires, dans les lacs alpins en voie de pollution.

Certaines espèces, cependant, sont confinées aux régions chaudes du globe, tandis que le plus grand nombre de Cyanobactéries est ubiquiste. De plus, elles constituent les gonidies, c'est-à-dire les cellules d'origine algale, d'un grand nombre de Lichens. Les cyanophycées sont un élément important du phytoplancton et certains étangs piscicoles leur doivent leur rendement exceptionnel en poissons. Par contre, certaines espèces donnent un goût et une odeur de vase aux poissons qui les consomment.

Elles sont plus tolérantes aux environnements extrêmes que les algues eucaryotes.

La composition en base de l'ADN d'une variété de cyanobactéries (formes unicellulaires) a été déterminée, elles renferment entre 35-71 % de G+C (groupe comportant des membres avec de faibles interrelations). D'autre part les de G+C pour les hétérocystes varient entre 39-47%.

En raison du manque de caractéristiques physiologiques qui pourraient être utilisées pour classer les cyanobactéries, les techniques de taxonomie moléculaire peuvent jouer sans doute un rôle majeur pour leur identification et leur classification.

Les cyanobactéries sont probablement les premiers organismes photosynthétiques dégageant de l'oxygène et sont responsables de la transformation de l'atmosphère initiale anaérobie en atmosphère aérobie.(**Mouffok, 2021**)

I.7. Condition de la croissance de la spiruline

La spiruline est une espèce photo autolitotrophe (grâce à ses pigments chlorophylliens), aérobie. Par conséquent, elle est dotée des photosystèmes I et II (**Merceron, 2006**). La photosynthèse constitue alors la clé de sa croissance.

Pour sa photosynthèse, la spiruline a besoin d'eau, de carbone, et d'éléments nutritifs dont l'azote en particulier. Elle assimile une source de carbone minéral (le CO₂ atmosphérique) et la convertit en énergie biochimiquement utilisable représentée par le glucose. Son point commun avec les autres cyanobactéries est qu'elle ne possède pas le cycle de Krebs complet (**Fox, 1999**).

I.7.1. Effet de la lumière sur la croissance de la spiruline

L'effet de la qualité de la lumière mixte avec des lampes LED rouges, bleues et vertes sur la croissance d'*Arthrospira platensis* a été étudié, de manière à jeter les bases théoriques et techniques pour établir un système d'éclairage de photo-bioréacteur pour une application dans l'espace. Entre-temps, des indices, comme la morphologie, le taux de croissance, les compositions de pigments photosynthétiques, l'efficacité énergétique et les principaux composants nutritionnels, ont été mesurés respectivement. Les résultats ont montré que la lumière bleue combinée à la lumière rouge pouvait diminuer l'étanchéité de filament, et l'effet de la lumière verte était opposé. La combinaison de la lumière bleue ou de la lumière verte avec la lumière rouge induit la filaments pour devenir plus courts en longueur. Le traitement 8R2B pourrait favoriser la croissance d'*Arthrospira platensis* de manière significative, et sa sécheresse le poids a atteint 1,36 g L⁻¹, soit 25,93 % de plus que le témoin. (Toudert, 2020).

I.7.2. Effet de la source de N sur la spiruline

La culture d'*Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) dans l'urine humaine a été étudiée pour obtenir une biomasse précieuse. NO₃-N était la bonne source de N, en comparaison avec d'autres sources de N, y compris l'urée, le NH₄-N et le NO₂-N. En conséquence, la nitrification aérobie d'urine humaine a été réalisée, avec un pourcentage de nitrification supérieur à 93,6 % finalement atteint avec une charge de N total (TN) de 46,52 mg/(L·d), dans lequel *Arthrospira platensis* a été cultivé avec succès. Les principales compositions de la biomasse obtenue sont proches de ceux en milieu de Zarrouk. Ainsi, il est possible de cultiver *Arthrospira platensis* dans de l'urine humaine nitrifiée pour la production alimentaire dans systèmes de support de vie biorégénératifs (BLSS). (Toudert, 2020).

I.8. Applications principales de la spiruline

I.8.1. En alimentation humaine

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

- En enravant 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 (**Lahoucin ;2019**)
 - Par sa composition, la spiruline convient très bien aux enfants et adolescents ainsi qu'au bébé en âge de consommer des protéines. Son apport en éléments essentiels de qualité, ainsi que sa haute assimilabilité, sont idéaux pour les organismes en développement. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour éviter les carences et éliminer les toxines liées à la restauration rapide adorée des ados. Elle apporte également un plus sur la qualité de la peau (**Vidalo, 2015**)
 - Sous la loupe de la diététique, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. Agissant comme un produit coupe faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique (**Tremblin et Moreau, 2017**) .
 - En agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la Spiruline (**Boudaoud, 2016**).

I.8.2. En cosmétique

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

I.8.3. En médecine

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

- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes);
- Le traitement de certaines affections dermatologiques.
- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies. Elle protège le coeur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales (**Dupont et al., 2014**).

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



Chapitre II

Biochimie de spiruline

II.1. Photosynthèse

Près de la moitié de l'activité photosynthétique sur terre est réalisée par des organismes aquatiques qui ne représentent pourtant que 1% de la biomasse totale (Falkowski and Raven, 2007). La photosynthèse qui signifie littéralement « synthèse réalisée à l'aide de l'énergie lumineuse » est le processus par lequel les microalgues transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique et fixent le carbone inorganique dissous (CID) . Il en résulte la synthèse de matière organique et la production d'oxygène. Ainsi l'activité photosynthétique est la fixation du CO₂ et la production d'O₂ via les mécanismes de la photosynthèse. Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques.

II.1.1. Phase photochimique

Est la phase dite éclairée de la photosynthèse, elle se déroule dans les membranes thylacoïdiennes, en présence de lumière. La captation de l'énergie lumineuse s'effectue grâce aux pigments photorécepteurs présents dans la membrane des thylacoïdes. Les pigments majoritairement présents sont la chlorophylle et les caroténoïdes (comme le bêta-carotène). Ces pigments sont regroupés dans les photosystèmes pour capter au mieux la lumière. Un photosystème est une entité composée d'une antenne et d'un centre réactionnel L'antenne, intégrée dans la membrane thylacoïdienne, est composée de centaines de pigments associés à des protéines et des lipides.

II.1.2. Phase d'assimilation de CO₂

Cette phase se déroule dans le stroma et ne nécessite pas directement de la lumière. Cette phase va réduire le CO₂ en matières organiques (glucides, lipides et protéines) (**Zeng et al., 2011**). L'ATP et le NADPH, H formés lors de la phase photochimique sont nécessaires pour la fixation du carbone. Le CO₂ va interagir avec le ribulose 1-5, diphosphate dans une réaction catalysée par l'enzyme nommée RubisCo. Cette enzyme est donc responsable de la fixation catalytique du CO₂, dans la cellule (Langley et al., 2012). La fixation de carbone est dépendante des produits créés pendant la phase éclairée mais ne dépend pas directement de l'énergie lumineuse. Par contre cette phase a besoin d'un apport continu en ribulose 1-5, diphosphate. Cette molécule est régénérée lors du cycle de Calvin . Le cycle de Calvin est composé de trois phases : la phase de carboxylation (intégration du CO₂), la phase de réduction, la phase de régénération (Hu, 2004). Pour une molécule de CO₂ fixée, trois

molécules d'ATP et deux molécules de NADPH, H sont consommées. Dans des conditions optimales, 10 à 16 moles de photons sont nécessaires pour fixer une mole de CO₂: (Richmond, 2004). En théorie huit moles de CO₂ sont nécessaires. Les moles en plus correspondent aux besoins minimums de la cellule en énergie. (Cadoret et Bernard, 2008).

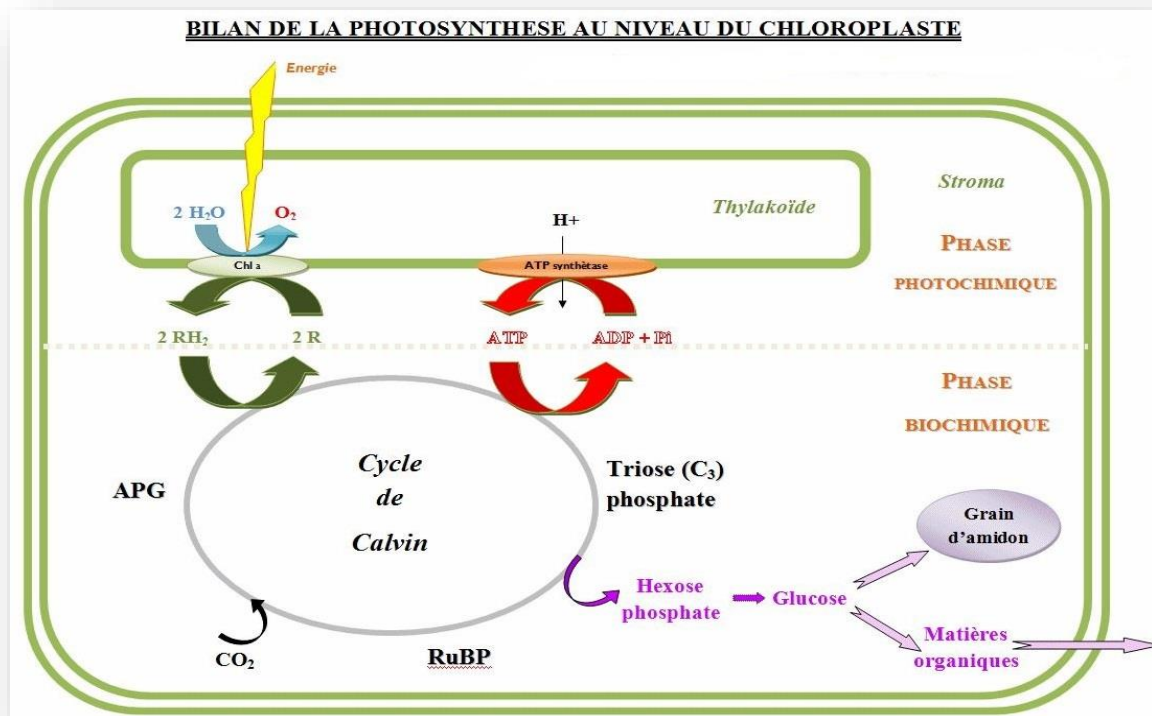


Figure (05) : bilan de la photosynthèse au niveau du chloroplaste. (<http://svtmarcq.over-blog.com/article-le-deroulement-de-la-photosynthese-et-ses-consequences-term-s-spe-70270525.html>)

II.2. Composition biochimique de la spiruline

La spiruline contient en moyenne, en poids sec, jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides et près de 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle A et des phycobiliprotéines. La variation des conditions de culture impacte sur la composition biochimique de la spiruline.

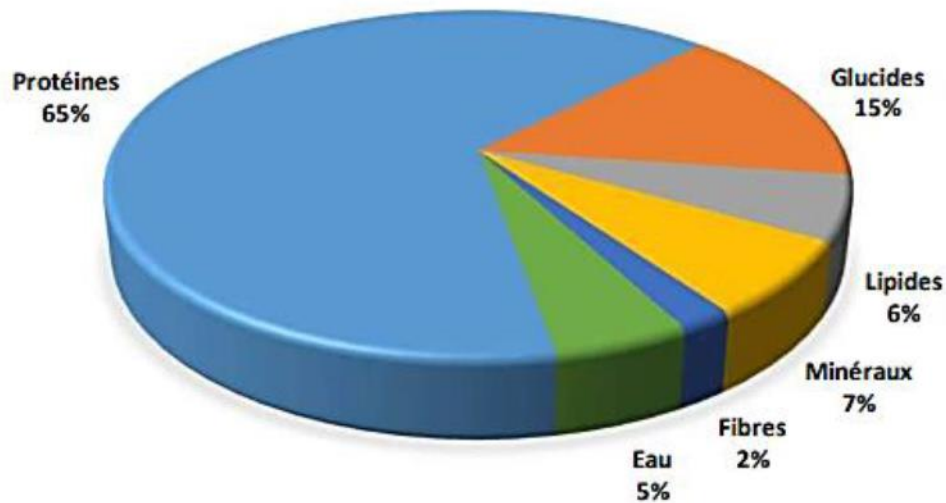


Figure (06) : Composition chimique de la spiruline (Lecoindre, 2017).

II.2.1. Protéine

La spiruline comprend dans sa composition entre 60 et 70% de protéines, 15% de glucides, 6% de lipides, 7% de minéraux et de 3 à 6% d'eau (Figure 05) (Niangoren, 2017). Les protéines présentes sont considérées comme le principal atout de cette algue, car aucun aliment n'en concentre autant (Barth et Léo, 2019).

La spiruline est utile dans l'alimentation humaine, en raison protéines de la haute qualité et de la quantité de ses protéines. La valeur nutritive d'une protéine est liée à la qualité des acides aminés, au coefficient de digestibilité, ainsi qu'à sa valeur biologique acide aminé indispensable qui ne peut être synthétisé de novo par l'organisme et doit donc être fourni par l'alimentation La Spiruline possède la plupart des acides aminés dont les acides aminés essentiels que sont l'isoleucine (Ile), la leucine (Leu), la lysine (Lys), la méthionine (Met), la phénylalanine (Phe), la thréonine (Thr), le tryptophane (Trp) et la valine (Val). 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 (Charpy, 2008).

II.2.2 Glucides

Représentant 15 à 25 % de la matière sèche, les glucides sont constituants de la membrane de la spiruline. La plupart des glucides sont constitués de polymères tels que l'aminoglucosan (1,9 % du poids sec) et des rhamnosans aminés (9,7 %) ou encore du glycogène (0,5 %).

Les glucides simples ne sont présents qu'en très faible quantité et sont le glucose, le fructose et le saccharose. Il existe également des polyols tels que le glycérol, le mannitol et le sorbitol (Hurni, 2006).

D'un point de vue nutritionnel, le seul glucide intéressant par la quantité qu'il contient est le phosphate de miso-inositol et est une excellente source de phosphore organique. Ainsi que l'inositol (350-850 mg/kg de matière sèche).

Tableau 01 : composition des Glucide . (Pascaud et al., 1993).

Eléments chimiques	Pourcentage
Glucide simple	Trace
Glucosane	1.9
Rhamnosane	9.7
Cyclitols	2_3
Immulina	0.5_2

II.2.3 Lipide

II.2.3.1 Taux lipide

Le pourcentage des lipides totaux est compris entre 6 et 13 % du poids sec en spiruline (Melle.Ben 2015).

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83 %) et une fraction insaponifiable contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols. La fraction saponifiable est surtout composée de monogalactosyl diglycérides et de digalactosyl diglycérides, 23%, de sulfoquinovosyl diglycéride, 5%, et de phosphatidyl glycérol, 25.9%. On ne trouve ni phosphatidyl choline, ni phosphatidyl éthanolamine, ni phosphatidyl inositol en quantités appréciables. Les triglycérides sont rares 0.3%. On détecte en outre 4.6% de phospholipides indéfinis (J. falquet 2006).

II.1.1.2 Acide gras

On considère que chez l'homme, les besoins en acides gras essentiels sont de 1 ou 2% des calories alimentaires pour l'adulte et de 3% pour les enfants . Il est maintenant bien établi que l'apport de lipides essentiels influe (entre autres) sur le système immunitaire tant humoral que cellulaire(**Hurni 2006**).

Les acides gras se distinguent par la longueur de leur chaîne carbonée et leur degré d'insaturation. (**Bsnehila 2015**).

La composition des principaux acides gras de 3 espèces de Spiruline révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels (acides gras insaturés C18). Ces acides gras incluent les oméga-3 et des oméga-6 qui sont qualifiés d'essentiels car l'organisme humain en a absolument besoin et ne peut les produire . Les acides gras omega-3 et oméga-6 de la Spiruline préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme. Ceci pourrait expliquer en partie la diminution des taux en cholestérol et triglycérides observés lors des expériences de L'acide gamma-linolénique (non-essentiel car il peut être synthétisé à partir de l'acide gras linoléique) constitue 10 à 20% des acides gras (soit 1-2% du poids sec) chez *Spirulina maxima* et jusqu'à 40% chez *S. platensis*, (soit 4% du poids sec). La Spiruline figurerait parmi les meilleures sources connues d'acide gamma-linolénique

Les sulfolipides tels les sulfoquinovosyl diglycérides qui représentent 5% de la fraction saponifiable intéressent les chercheurs pour leur activité protectrice contre des infections virales(**Charp, 2008**)

Tableau 02: Composition typique en pourcentage des principaux acides gras de trois espèces de spiruline (**Pascaud et al., 1993**).

Acide gras	Pourcentage
palmitique (16:0)	25.5
palmitoléique (16:1) oméga-6	3.8
stéarique (18:0)	.17
oléique (18:1) oméga-6	16.6
linoléique (18:2) oméga-6	40.1
gamma-linolénique(18:3)méga-6	40.1
alpha-linolénique (18:3) oméga-3	Absant

II.1.4. Acides nucléiques

La spiruline contient 2,2%-3,5% d'ARN et 0,6%-1% d'ADN, qui représente moins de 5% de ces acides, basé sur le poids sec. Ces valeurs sont plus petites que celles d'autres microalgues comme la Chlorella et Scenedesme (**Jaime. Be 2003**)

admissible à long terme d'acide nucléique se situe aux alentours de quatre grammes par jour, pour un adulte (**Boudène, 1975**). Il faut ajouter que l'ARN produit deux fois plus d'acide urique que l'ADN, pour une même teneur en purines et que l'élévation du taux d'acide urique dépend aussi de multiples facteurs, tels que l'âge, le sexe ou encore l'obésité... Chez *S. Platensis* comme chez *S. Maxima*, on rapporte des valeurs de 4.2 à 6% d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche). La proportion d'ADN serait d'un quart à un tiers par rapport à l'ARN (15). Ces chiffres sont à mettre en rapport avec d'autres aliments . La teneur en acides nucléiques des spirulines est très inférieure à celle de la généralité des unicellulair (**Hurni ,2006**)

Tableau 03 : teneur en acides nucléique (Borwitzka , 1988).

Aliments	Acides nucléique (% mat. sèche)
Viande de boeuf	1.5
Foie de boeuf	2.2
Spiruline	4_6
Levure	23

II.1.5. Vitamine

Parmi les aliments, la spiruline a un parent concentration élevée en provitamine A. Une dose excessive de β carotene peut être toxique, mais lorsque le Pcarotène est ingéré de la Spiruline ou un autre légume, il est généralement inoffensif car l'organisme humain ne se convertit qu'en vitamine A la quantité dont elle a besoin . La spiruline est une source très riche en vitamine B12 , et c'est une raison pour laquelle ces les cyanobactéries sont d'une grande valeur pour les gens besoin de suppléments dans le traitement de anémie pernicieuse(**Sánchez1, al 2003**).

II.1.6. Minéraux

La différence entre minéraux et oligo-éléments est qu'un minéral excède 1/10 000 du poids du corps alors qu'un oligo-élément est présent dans des quantités 10 fois moindre ; ainsi les besoins en minéraux sont de l'ordre du gramme alors que les besoins en oligo-élément

sont de l'ordre du milligramme ou microgramme Les minéraux spécialement intéressants chez la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium (7 % du poids sec). Selon le pH et la composition du milieu de culture, elle absorbe plus ou moins les minéraux d'où des teneurs variables. Concernant le fer, il est 2 à 3 fois mieux assimilé que celui des légumes ou de la viande. En effet, le fer de la spiruline n'est pas à l'état libre mais chélaté à des acides aminés qui vont favoriser son absorptio (.MANET 2016)

Tableau 04 :composition des minéraux.(Audry ,2016)

Minéraux	mg 100g·1
Calcium	130
sodium	0.09
Magnesium	25-50
Phosphore	67
Potassium	100-200
fer	7-18
Zinc	0.4

II.3. Métabolite secondaire

En revanche, les cyanobactéries produisent une grande variété de métabolites qui peuvent être des peptides de faibles poids moléculaires, des composés phénoliques, des flavonoïdes ,des alcaloïdes, des terpénoïdes, (FALQUET et HURNI, 2006). La plupart de ces métabolites sont accumulés dans la biomasse cyanobactérienne, mais cela n'empêche pas que certaines cyanobactéries comme *S. platensis* excrètent ces métabolites dans leur environnement, d'où leurs nominations par certains auteurs « d'exo-métabolites ou de métabolites extracellulaires ».

II.3.1. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des dérivés non azotés ou leurs molécules sont formées par une ou plusieurs noyaux aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyles. Chimiquement, les polyphénols peuvent être divisés en plusieurs catégories en se basant sur le nombre d'atome de carbone dans les squelettes de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides telles que des acides phénoliques, des flavonoïdes, isoflavonoïdes, stilbènes et les tanins sous forme un polymères phénoliques

(Ludmila ,et al, 2015). Les différentes classes de ces composés phénoliques sont classées dans le tableau ci-dessous. (Abdalaziz, 2017).

II.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont parmi les polyphénols qui possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles phényles, les cycles A et B, reliés par une chaîne à trois carbones (structure en C6-C3-C6). La chaîne en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisée pour former le cycle C. Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et anti-ulcérogènes. Certains, Ils ont été surnommés les « *modificateurs naturels des réponses biologiques* » (Bougandoura, 2010), alors que les tanins sont une famille complexe de principes actifs. Ils ont la capacité de former des complexes avec des macromolécules (les protéines, glucide ...) et des liaisons entre les fibres de collagènes. Leur structure chimique est particulièrement variable, mais comporte toujours une partie polyphénolique ; il existe deux catégories de tanins, d'origine biosynthétiques différente : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Boutalbi , 2014).

II.3.3. Alcaloïdes

En outre, les alcaloïdes forment un groupe hétérogène du point de vue de leur structure, de leurs propriétés et de leurs effets biologiques. La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que le tryptophane, la lysine, l'asparate, l'antranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplées à d'autres squelettes carbonés (CYRIL, 2001). Ils agissent directement sur le système nerveux avec des effets sur la conscience et la motricité. Leur action sur le système nerveux peut aller jusqu'à une action antispasmodique, et mydriatique, anesthésique locale ou analgésique et narcotique. D'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes telles que, anti-malaria, anti-hypertensive, antitussive, stimulant centrale, dé-pressant cardiaque, et anti-tumeur (Bougandoura , 2010 ;)

II.3.4. Terpénoïdes

Les terpénoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé « *isoprène* » liées avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone,...ect). Nous distinguons : les terpènes proprement dit mono-terpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les di-terpènes en

C20, les tri terpènes (C30) (exemple : les stéroïdes), les tétras terpènes (C40) et les poly terpènes (~4 000) (Boutalbi, 2014). Nous pouvons citer les caroténoïdes qui sont les mieux connus des terpénoïdes dont ils représentent un large groupe de pigments naturels de couleurs jaune, orange et rouge. Ils sont très répandus dans les plantes, les algues, et différents microorganismes. Ils se composent de 40 atomes de carbone, huit unités isoprénoïdes à cinq carbones (C5), et une longue chaîne hydrocarbonée polyène qui peut contenir de 9 à 15 liaisons conjuguées. En plus du pouvoir colorant, ils ont des propriétés de prévention contre les maladies chroniques et du cancer .(Abdalazize,2017)

II.3.5. Pigment

Certains pigments naturels se trouvent dans la Spiruline, Ces pigments sont responsables des couleurs caractéristiques de certaines espèces de flamingo qui en consomment cyanobactéries dans la vallée africaine. (Martba. S ,, Jaime. B 2003)

La Spiruline contient des chlorophylles dont la chlorophylle a (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le β -carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine (Charpy .L ,Marie.J 2008)

Tableau 05 : Composition des pigment.(Ghennai Anissa ,2018)

Pigments	Teneur mg 100g ⁻¹
Catéchine	2 ,27
Chlorophyll <i>a</i>	1500
Phycatéchol	2 ,89
Epicatéchine	2 ,75
Xanthophyllles	160

Chapitre III

Activité Biologique de spiruline

III.1. Activité Antioxydante

Les propriétés antioxydantes de la Spiruline et de ses extrait sont récemment retenu l'attention des chercheurs. Dans une des premières études (**Belay ,2002**) , ont évalué l'activité antioxydante des caroténoïdes, des composés phénoliques et des tocophérols extraits de *Spirulina maxima*. Ils ont découvert que les composés phénoliques responsables des caractéristiques antioxydantes des algues étaient des acides organiques (caféique, chlorogénique, quinique, salicylique, synaptique et trans-cinnamique).

Arthrospira platensis a des caractéristiques de piégeage des radicaux libres et une activité antioxydante en raison d'un certain nombre de pigments naturels tels que la zéaxanthine, la B-cryptoxanthine, les xanthophylles, la chlorophylle, le B-carotène, la phycoérythrine et la phycocyanine, la myxoxanthophylle et l'échinénone . La structure chimique de la chlorophylle est similaire à celle de l'hémoglobine. La chlorophylle peut stimuler la croissance des tissus en facilitant un échange rapide de dioxyde de carbone et d'oxygène . Les dérivés de la chlorophylle comme le phéophorbide b et la phéophytine b sont de puissants antioxydants(**Hajati,2015**)

III.2. Activité antimicrobienne

Ont rapporté que divers extraits de spiruline ont montré une activité antimicrobienne sur les bactéries gram-positives et gram-négatives. Cependant, il a été rapporté que *Spirulina platensis* est plus efficace sur les bactéries gram-positives que sur les bactéries gram-négatives). Cela peut être dû au fait que la paroi cellulaire des bactéries gram-positives est constituée d'une seule couche, alors que les bactéries gram-négatives ont des parois cellulaires multicouches . L'activité antibactérienne de l'extrait d'algues pourrait être due à la présence de différents produits chimiques tels que le 1-octadécène, le 1-heptadécane , les flavonoïdes, les triterpénoïdes, les composés phénoliques, les acides gras , , acide acrylique ou groupe hydroxyle libre . Les acides gras à longue chaîne insaturés et saturés (plus de 10 carbones) peuvent lyser les protoplastes de la bactérie(**Al-Ghanayem,2017**)

III.3. Activité anti-inflamatoire

Le pigment « phycocyanine », qui recueille la lumière, fait partie des phycobilibrotéines avec la phycoérythrine et l'allophycocyanine, et se trouve exclusivement dans les cyanobactéries, les cryptophytes et les algues rouges (**Hu et al., 2018**). La présence

de phycocyanine donne la couleur bleue caractéristique des cyanophytes, et d'où le nom d'algues bleues vertes. (Eriksen 2016) a conclu que la spiruline est la seule source efficace de production naturelle de phycocyanine dans des conditions photoautotrophes. Malgré les défis auxquels sont confrontées la culture de la spiruline et l'extraction de la phycocyanine, il n'y a pas d'autres sources particulières de phycocyanine naturelle. La phycocyanine peut également être produite à partir d'autres microalgues, par ex. de l'algue rouge unicellulaire *Galdieria sulphuraria* dans des conditions hétérotrophes.

Dans une étude précédente, (Ebaid et al., 2017) ont estimé la teneur en phycocyanine de 46,57 mg · g⁻¹ poids sec chez *A. platensis* cultivé dans un milieu Zarrouk pendant 18 jours à 25 ± 3 °C et une intensité lumineuse de 2500 Lux avec une photopériode de 18:6 h lumière : cycle d'obscurité. Il convient de noter que la teneur relative en phycocyanine a montré des changements significatifs dans différentes conditions de lumière dominante, ce qui a été confirmé comme un mécanisme de piégeage pour prévenir ou réduire les dommages photo-inhibiteurs ont étudié quatre modèles d'inflammation expérimentaux in vivo (n = 7) et ont confirmé l'activité de la phycocyanine pure en tant qu'agent anti-inflammatoire dans tous les modèles étudiés. L'utilisation de 50, 100 et 200 mg·kg⁻¹ de phycocyanine a réduit de manière significative l'œdème de l'oreille induit par l'acétate de tétradécanylphorbol et l'acide arachidonique chez la souris de 47,6, 60,3 et 66,6 %, respectivement. De plus, l'application de 50 à 200 mg·kg⁻¹ de phycocyanine chez des rats expérimentaux a inhibé les taux de leucotriène B4 (LTB4), de prostaglandine E2 (PGE2) et l'œdème induit par l'acide arachidonique ont conclu que la spiruline protège contre les effets pro-inflammatoires négatifs induits par le glucomannane chez les rats Zucker Fa/Fa en raison de la teneur élevée en phycocyanine (Shaoa,2019)

III.1.4Activité anticancéreuse

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

III.1.5 Activité antivirale

La richesse de la spiruline en β -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (C. Girardin-Andréani 2005). 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 (C MV) et le VIH-1 (Youghare, 2007)

Partie pratique

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Matériels

I.1.1. Matériels biologique

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est l'algue bleu-vert Spiruline . Ils sont cultivé et séchie dans la région de (Aures et Tamanrasset).

I.1.2. Matériels utilisés

I.1.2.1. Screening chimique

Lors de la détection chimique des métabolites secondaires dans , nous avons utilisé les matériels, appareils, solutions et réactifs listés dans le tableau(05).

Tableau (05) : matériels , solutions, réactifs et les appareils usagés en screening chimique.

Matériel	Réactifs	Les appareils
Matériel biologique (spiruline)	éthanol	balance sensitive
becher	eau d'distillée	plaque chauffent
spatule	réactif de fihling	Refroidisseur
pipette	Fe cl3	
entonnoir	NH3 ammoniaque	
papier de filtration	réactif wagner	
des tubes à essai	ether	
flacon	chloroforme	
	Mg	
	acide chlor hydrique (Hcl)	
	anhydride acétique	
	acide sulfurique H2SO4	

I.1.2.2 Extraction

Au cours du processus d'extraction, les matériels , solutions et dispositifs ont été utilisés et présentés dans le tableau(06) .

Tableau(06) : matériels , solutions, réactifs et les appareils usagés en macération méthanolique et éthanolique

Matériel	Réactifs	Les appareils
matériel biologique flacon spatule entonnoir papier de filtration	éthanol méthanol eau d'distillée	rotavapor etuve

I.1.2.3. Dosage des composés phénoliques

En estimant les composés phénoliques, nous avons utilisé les solutions, matériels, et les appareille présentés dans le tableau (07).

Tableau (07) : En estimant les composés phénoliques, nous avons utilisé des dosage

	Solution	mitrailles	Les appareille
Dosage de polyphénol	Ethanol Méthanol Acide gallique Na ₂ CO ₃ (7.5%) Folin -ciocalteau (10%)	Extraits alcooliques Tubes à essai Béchar Support de tube à essai	Balance sensible Spectrophotomètre
Dosage de flavonoïde	Ethanol Méthanol Quercétine AlCl ₃ (2%)		

I.1. 2.4. L'étude de l'activité biologique de la spiruline

Pour estimer l'activité antioxydante, nous avons utilisé les mitrailles, solution et les appareils présentés dans le tableau (08) .

Tableau (08) : les solutions, les mitrailles, les appareils utilisé dans la activité antioxydante.

Les solutions		Mitrailles	Les appareils
FRAP		Extraits alcooliques Tubes à essai Béchar Support de tube à essai Papier d'aluminium Micropipette Spatule Les cuves	
DPPH*	Ethanol Méthanol DPPH* (2,2-diphénol- 1picrylhydrazyl) (0.1mM)		Balance sensible Spectrophotomètre Bain mare

I.2. Méthodes

I.2.1. Screening chimique

➤ Préparation du matériel biologique avec l'éthanol

10 g de matériel biologique est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure. Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux tests illustré dans .

I.2.1.1 Flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des

flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (**Debrayb *et al.*, 1971; Paris *et al.*, 1969**).

I.2.1.2 Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. Un test révélé par l'apparition d'une coloration bleu- noire (tanins galliques), bleu-verte (tanins cathéchiques (**Trease et Evans, 1987**).

I.2.1.3 Composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Trease et Evans, 1987**).

I.2.1.4 Saponosides

➤ **Préparation du décocté**

Dans une fiole jaugée de 250 ml, nous avons mis 1g de spiruline et 50ml d'eau, puis nous avons porté le mélange à ébullition modérée (décoction) pendant une demi-heure (30mn). Après refroidissement et filtration, nous avons ajusté le volume de filtrat à 50 ml d'eau.

➤ **Mise en oeuvre pratique**

À partir de cette solution mère, nous avons préparé 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 0.5, 1, 1.5 jusqu'à 5 ml de décocté; le volume final étant réajusté à 15ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes a été agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, nous avons relevé la hauteur de la mousse persistante en cm. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides (**Igwe, 2010**).

I.2.1.5. Anthocyanes

2 ml d'infusé aqueux sont ajoutés à 2 ml de HCl 2N. L'apparition d'une coloration rose- rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (**Debrayb *et al.*, 1971 ; Paris *et al.*, 1969**).

I.2.1.6 Alcaloïdes

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 24 h de 10 g de la poudre biologique dans 50 ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 à la température ambiante du laboratoire. Après filtration sur un papier lavé à l'eau distillée et de manière à obtenir environ 50 ml de filtrat, 1 ml du macéré est introduit dans deux tubes à essai puis 5 gouttes de réactif de Mayer ont été ajoutés dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Wagner ont été ajoutés dans le deuxième. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes. (**Debrayb *et al.*, 1971 ; Paris *et al.*, 1969**).

I.2.1.7 Triterpènes

Faire tremper 5g de matière biologique sèche dans 10ml de éther de pétrole pendant 24 heures dans l'obscurité, et l'extrait est filtré et placé dans un tube exposé à une plaque chauffante, jusqu'à ce que l'extrait évapore, puis il est traité avec 0,5ml d'anhydride acétique 0,5ml de chloroforme et un peu d'acide sulfurique. (**Trease et Evans, 1987**).

I.2.2. Extraction

L'extraction des principes actifs de spiruline est effectuée par macération à froid en utilisant trois solvants de polarités différentes.

I.2.2.1. Macération méthanolique

La macération consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide. Un poids de 10 g de matériel biologique est mélangé avec 100 ml de méthanol. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis il est filtré. L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par Rotavapeur jusqu'à l'évaporation de méthanol. Sont divisés en deux parties, une dissoute dans le méthanol, l'autre dans l'eau renferme 10% de DMSO (v/v).

I.2.2.2. Macération éthanolique

La macération consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide. Un poids de 10 g de matériel biologique est mélangé avec 100 ml d'éthanol. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis il est filtré. L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel biologique L'extrait. Obtenu est

concentré par Rotavapeur jusqu'à l'évaporation de méthanol. Sont divisés en deux parties, une dissoute dans l'éthanol, l'autre dans l'eau renferme 10% de DMSO (v/v).

I.2.2.3. Rendement des macérations

$$\text{Rendement} = (\text{poids de l'extrait} / \text{poids de la matière biologique sèche initiale}) * 100$$

I.2.3. Dosage des composés phénoliques

I.2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques totaux ont été déterminés par la méthode singleton-rossi à l'aide du réactif de folin-ciocalteau, car ce réactif est constitué d'acide phosphotungsténique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄), qui est réduit par les phénols en oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et du molybdène (MO₈O₃) de couleur bleue.

Les composés phénoliques sont quantifiés par un spectrophotomètre, où nous utilisons l'acide gallique comme phénol de référence à la longueur d'onde $\lambda = 760$. (IVANA *et al.*, 2011)

➤ Mise en oeuvre pratique

Afin de quantifier les composés phénoliques, nous suivons les étapes suivantes :

Nous préparons des solutions diluées d'acide gallique dans l'éthanol et le méthanol avec des concentrations connues (0.2-1mg/ml) pour la détermination quantitative des polyphénols dans les extraits éthanoliques et méthanoliques.

Les polyphénols totaux ont été déterminés selon SINGLETON et ROSSI (1995) en utilisant le réactif folin-ciocalteau, où l'on mélange 0,2ml d'une série de concentrations d'extraits éthanoliques et méthanoliques avec 1ml de solution de folin-ciocalteau diluée 10 fois, puis on ajoute 0,8 ml de Na₂CO₃ (7.5%) au mélange, puis les tubes sont agités et incubés à la température du laboratoire pendant 30 minutes.

L'intensité de l'adsorption du mélange résultant est mesurée à une longueur d'onde de 760 nm, et le produit est exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière

sèche (AG E/g matière sèche), en traçant une courbe de titrage pour les concentrations d'acide gallique dissous dans le méthanol et le méthanol.

I.2.3.2. Dosage des Flavonoïde

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes.

Les flavonoïdes ont été quantifiés par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 420 nm. Pour la quantification des flavonoïdes, nous utilisons la courbe standard de la quercétine. (ZHISHEN *et al.*, 1999).

Selon ORDONEZ et ses collaborateurs (2006), des solutions diluées de quercétine dans de l'éthanol et du méthanol avec des concentrations connues (0.2, 1 mg/ml) ont été dissoutes Lors de l'estimation de la teneur en flavonoïdes avec des extraits éthanoïques et méthanoïques.

➤ Mise en oeuvre pratique

La teneur en flavonoïdes a été déterminée en mélangeant 0,5 ml d'AlCl₃ à une concentration de 02% Agiter les tubes et incubé à température du laboratoire pendant une heure, à l'abri de la lumière.

L'intensité de l'absorption du mélange est mesurée à une longueur d'onde de 420 nm, où le résultat est exprimé en nombre de milligrammes équivalent à la quercétine par gramme de matière sèche.(mg QE/g Matière Sèche).

C'est à travers l'équation linéaire de la courbe d'étalonnage du quercétine préparé dans l'éthanol et le méthanol.

I.3.Etude de l'activité biologique de la spiruline

I.2.4. Activité antioxydante

I.2.4.1 DPPH●

Le DPPH● (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH●

Le pourcentage d'inhibition racinaire DPPH● pour les différentes concentrations d'extraits alcooliques a été calculé à partir des deux courbes étalons α -Tocopherol (0.00001-0.0001 mg/ml) et d'acide ascorbique avec des concentrations de (0.002-0.01mg/ml) selon l'équation suivante :

$$I \% = [(Ac - As)/Ac] \times 100.$$

Ac : absorbance du contrôle

As : absorbance du test effectué

➤ Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH●. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. (DZIRI *et al.* 2012).

I.2.4.2. FRAP

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). En effet le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. (Oyaizu, 1986).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

➤ Mise en œuvre pratique

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par (Oyaizu, 1986)., En effet, 1 ml de différentes concentrations de chaque extrait (0.2 ; 0.4 ; 0.6 ; 0.8 ; 1 mg) dilué dans l'eau distillée est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($K_3Fe(CN)_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. après, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné.

Le tout est centrifugé à 3000 tours pendant 10 min. 2,5 ml du surnageant de chaque concentration est mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml FeCl₃ (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

Calcul EC50

Afin de déterminer l'activité antioxydante des extraits, nous avons calculé l'EC₅₀, c'est-à-dire la concentration nécessaire pour réduire de 50% le fer.

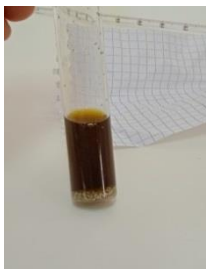






Chapitre II

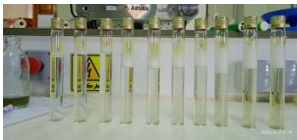





Résultats et discussion

II.1 Résultat de screening chimique

L'étude phytochimique a été permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires. Le tableau (9) regroupe les résultats des tests phytochimiques réalisés sur la spiruline.

Tableau (9) : Résultats du screening phytochimique de spiruline.

Recherche de	Résultat +- X 1	Résultat photo X 1	Résultat +- X2	Résultat photo de X2
Flavonoïdes	+++		+++	
Phénols	+++		+++	
Composée réducteur	++		-	
Anthocyanes	-		/	/

Recherche de	Résultat +- X 1	Résultat photo de X 1	Résultat +- X 2	Résultat photo de X 2
Saponosids	+++		+++	
Triterpan	+		/	/
Alcaloide	-		-	
Tanins	-		++	

/: Test non effectué, - : Test négatif, +: Test faiblement positif, ++: Test positif, +++: Test fortement positif / X1 :spiruline de Aures / X 2 :spiruline de Tamanrasset .

a- Description

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les deux biomasse séché de spiruline X1 et X2. En utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau de la spiruline. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité.

D'après les résultats obtenus de screening phytochimiques, on constate que la plante étudiée présente une diversité moléculaire quant aux métabolites secondaires.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur la cyanobactérie mentionnés dans le tableau (09), montrent la présence des flavonoïdes et Saponosides et phénols dans la spiruline X1et X2 .

Il y a également une absence totale d'alcaloïdes et d'anthocyanes dans X1 et X2.

Et pour toutes les Triterpanoïdes et les Composée réducteur, nous avons remarqué leur présence en X1 et leur absence totalement en X2.

Les tanins sont abondamment présents dans la spiruline X2 . Alors que la spiruline X1 , manque de sa présence à travers l'interaction négative .

b- Discussion

Cela a été confirmé par (**Abdelaziz 2017**) dans son étude sur la détection des métabolites secondaires de la spiruline, où les résultats ont montré la présence à la fois de saponines, d'alcaloïdes et de flavonoïdes dans la spiruline et l'absence de tous les composés de référence, les anthocyanes et les terpènes.

Ainsi, on peut dire que la spiruline est riche en flavonoïdes, phénols et saponines, qui jouent un rôle très important dans la protection des aliments d'origine végétale contre l'oxydation, ce sont des antioxydants connus pour leur effet anti-radicalaire (**Makhloufi 2010**).

II.2. Rendement de macération

Après le processus d'extraction, le rendement a été estimé par %, et les résultats écrit dans le tableau (10).

Tableau (10) : les résultats des extraits étudiés

	Poids d'extraire(g)	Rendement (%)
Spiruline X1 au méthanol	0.74 g	7.4%
Spiruline X2 au méthanol	0.96 g	9.6%
Spiruline X1 au éthanol	1.84 g	18.4%
Spiruline X2 au éthanol	1.38 g	13.8%

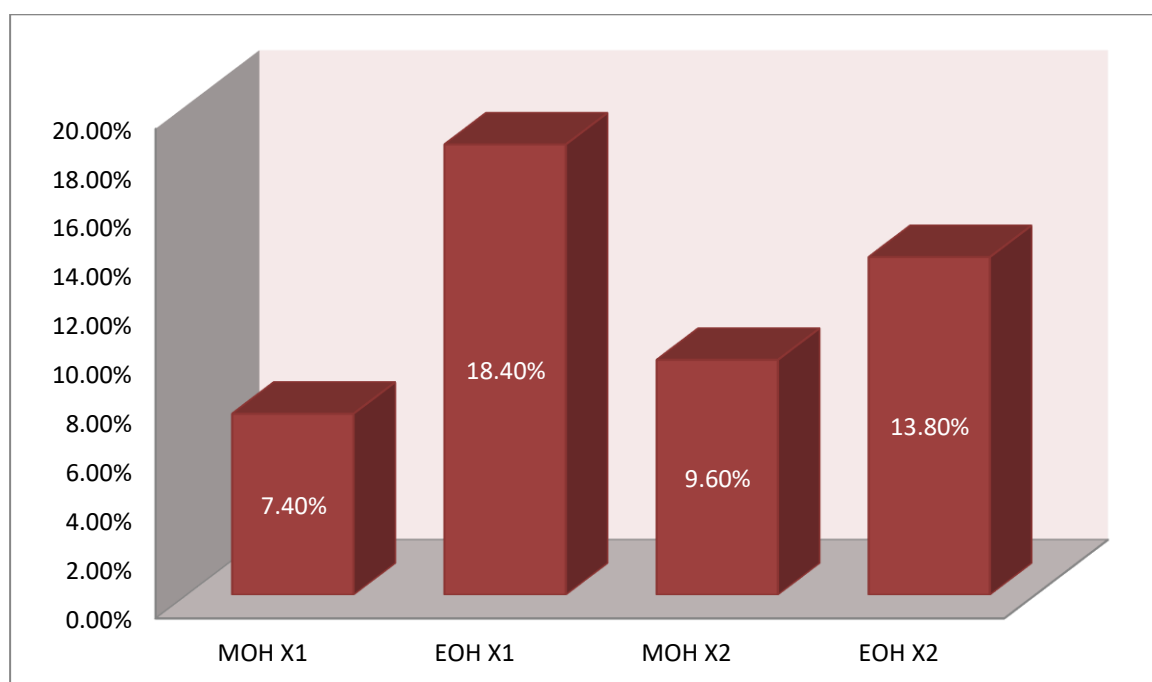


Figure (08) : le rendement des extraites éthanolique et méthanolique.

EOH : extraite éthanolique

MOH : extraite méthanoïque

a-Description

Les résultats obtenus à travers le tableau représentés dans le graphique tableau pour les spiruline X1 et X2 ont montré que le rapport de rendement des extraits est proche, puisque nous constatons que le rapport de rendement de l'extrait éthanolique de spiruline X1 et X2 a

été estimé à 18,4% et 13,8%, quant à l'extrait méthanolique spiruline X1 et X2 ont été estimés à 9,6% et 7,40%.

b-Discussion

On constate que le rendement d'extraction de l'extrait éthanolique est supérieur à celui de l'extrait méthanolique, et cela est dû au type d'extrait et à la concentration du solvant (méthanol et éthanol) utilisé.

Dans d'autres résultats (**Kanoun, 2011**), les résultats obtenus pour les extraits bruts méthanoliques, montrent que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait brut des fruits de *Myrtus communis* L. (28,83%) suivi des feuilles (25,03%) et des tiges (12,27%).

II.3. Dosage des polyphénols totaux

II.3.1. Dosage des composés phénoliques

En utilisant la méthode singleton et **rossi** et en utilisant l'équation linéaire de la courbe standard pour l'acide gallique dans l'éthanol, figure (08) Et méthanol, figure (09) Cette teneur quantitative en polyphénols des extraits éthanoliques et méthanoliques est exprimée en mg équivalent acide gallique de matière sèche comme indiqué dans le figure (11).

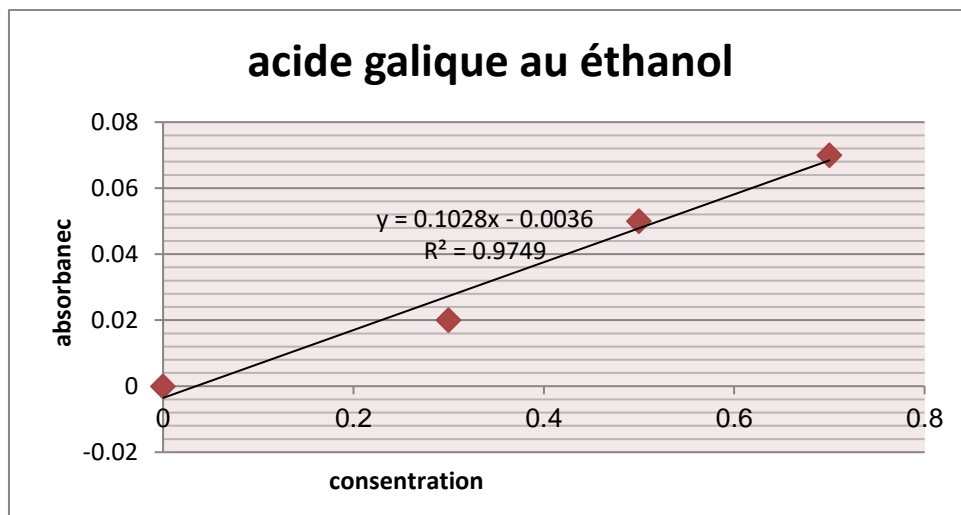


Figure (09) : courbe étalon d'acide gallique pour le dosage des polyphénols pour extrait éthanolique .

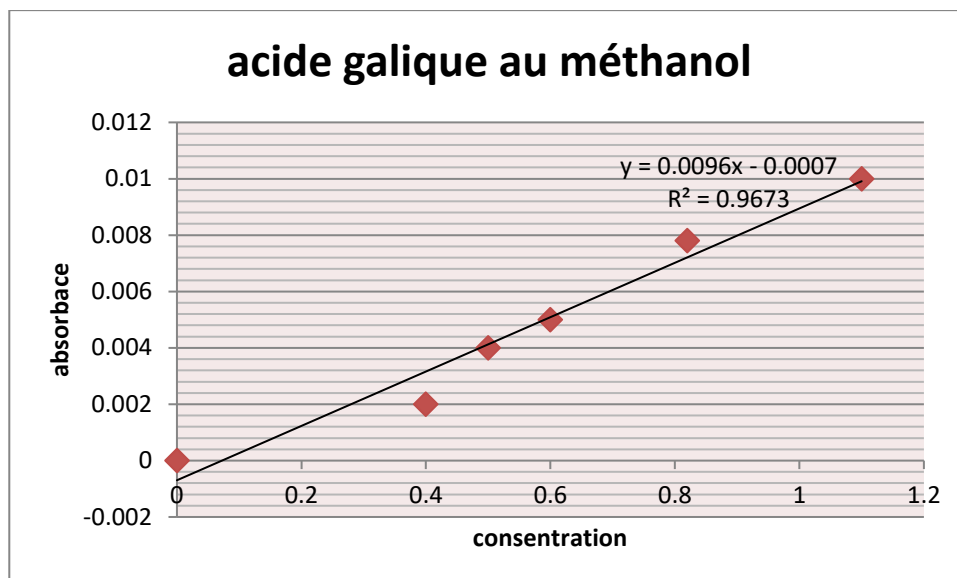


Figure 10 : courbe étalon d'acide gallique pour le dosage des polyphénols pour extrait méthanolique.

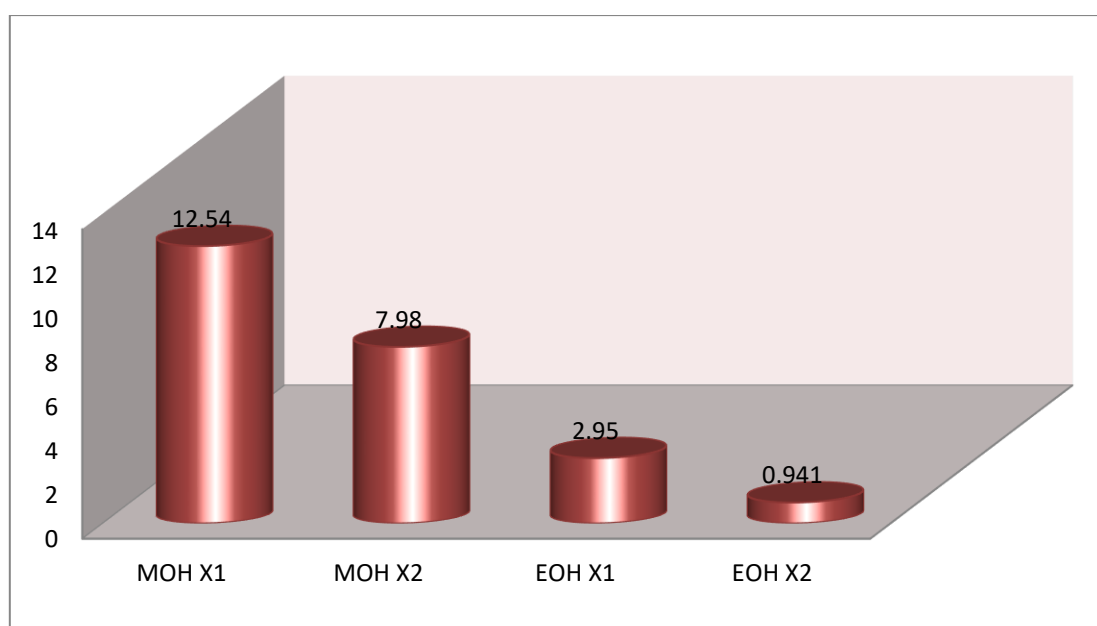


Figure (11) : Teneurs en polyphénols des deux extraits de deux spiruline X1 et X2.

a- Description

La quantité de phénols dans les extraits méthanoliques était très supérieure à leur quantité dans les extraits éthanoliques X1 et X2. La quantité de composés phénoliques pour les deux extraits méthanoliques était proche, avec une valeur estimée de 7,98 mg AG E/g Matière sèche en X2 et 12,54 mg AG E/g Matière sèche en X1, respectivement.

Quant aux deux extraits éthanoliques, ils sont également proches, estimés à 0,941 mg AG E/g Matière sèche en X2 et 2,95 mg AG E/g Matière sèche en X1. La spiruline X1 est supérieure à X2 dans la teneur quantitative en polyphénols dans les deux solvants.

b-Discussion

Dans d'autres résultats en prenant le méthanol comme solvant,(**Kosalec et al ., 2013**) ont eu une quantité des polyphénols totaux égale à $38,4 \pm 1,56$ mg EAG/g d'extrait. Ainsi, **Boussahel et al (2013)** ont obtenu $33,65 \pm 2,5$ mg EAG/g d'extrait. Ces résultats sont inférieure à nos résultat.

La raison de cette différence de composés phénoliques est due aux conditions climatiques dans lesquelles vie la spiruline

II.3.2. Dosage des Flavonoïde

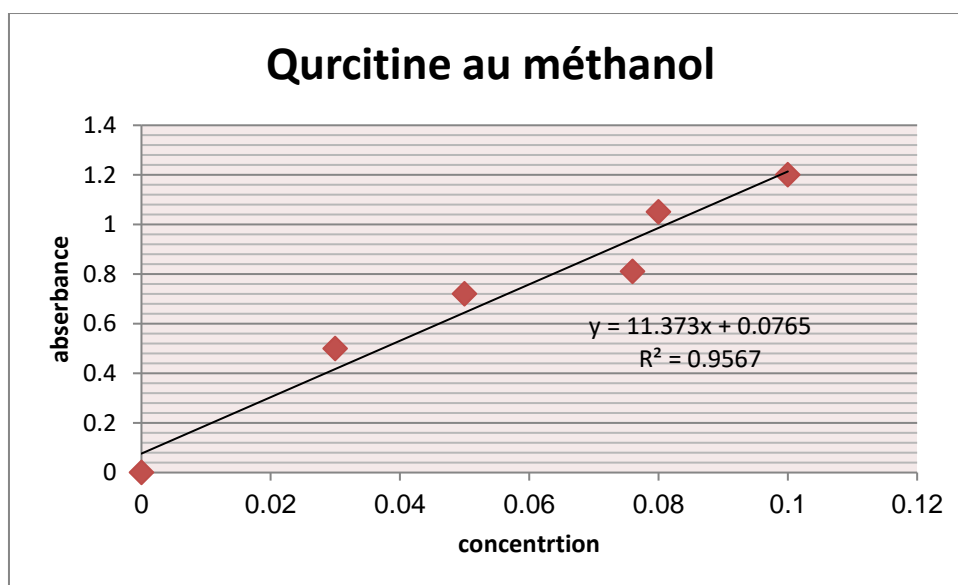


Figure (12) : courbe standard de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique

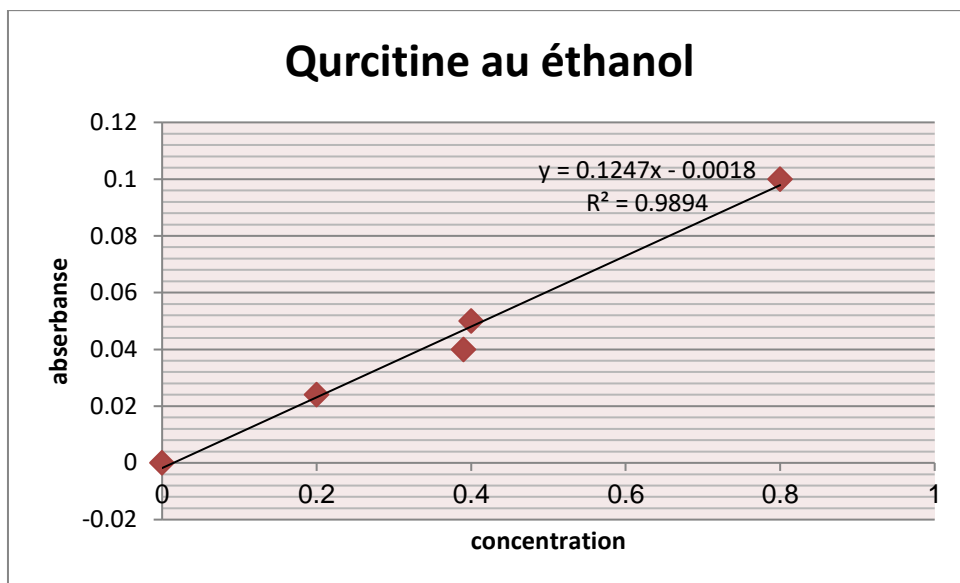


Figure (13) : courbe standard de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique.

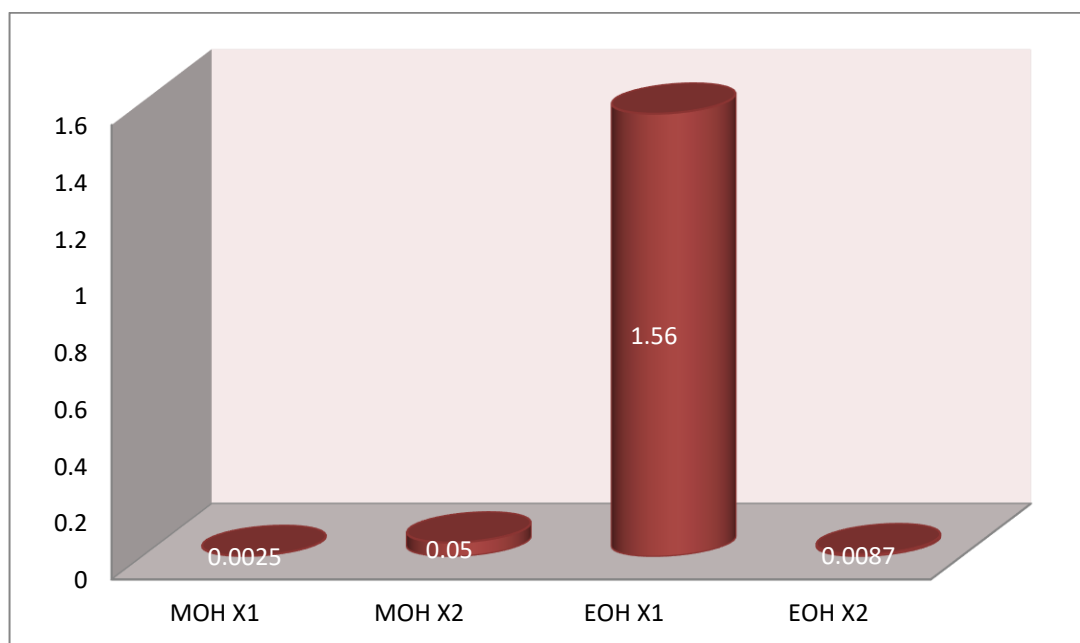


Figure (14) : Teneurs en flavonoïdes des deux extraits de deux spiruline X1 et X2 .

a-Description

La quantité de flavonoïdes dans les extraits éthanoliques était très supérieure à leur quantité dans les extraits méthanoliques X1 et X2.

La quantité de flavonoïdes pour les deux extraits éthanoliques était quelque peu similaire, sa valeur étant estimée à 0,087 dans X2 et 1,56 dans X1, respectivement.

Quant aux deux extraits méthanoliques, ils sont également proches, estimés à 0,05 en X2 et 0,025 en X1, La spiruline X1 est supérieure à X2 dans la teneur quantitative en polyphénols dans les deux solvants.

b-Discussion

Et par rapport à l'étude réalisée par (**Sahraoui ,2019**) , il est atteint des valeurs élevées par rapport à notre étude qui était estimée à $40,63 \pm 0,008 \mu\text{g EQ/mg}$ d' l'extraite . La raison de cette différence de composés phénoliques est due aux conditions climatiques dans lesquelles vit la spiruline

II.4. Activité antioxydante

II.4.1. DPPH

Pour déterminer le taux d'inhibition des extraits alcooliques de les radical libre de DPPH, nous avons utilisé l'équation des courbes étalon, de α -tocophérol et de l'acide ascorbique dans annexe (2). la courbe des inhibition des radical libre DPPH par l'extrait éthanolique reprisanté dans la figure (13), et le temps d'inhibition par l'extraite méthanolique des radical libre DPPH reprisant dans la figure (14) respectivement, et les résultats sont présentés dans la figure(15).

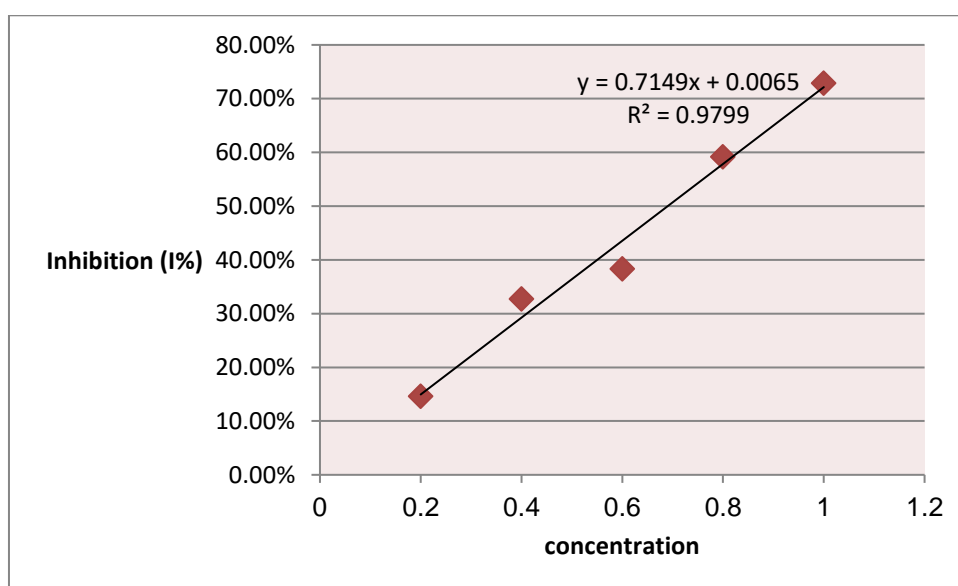


Figure (15) : Courbe pour une solution éthanolique certifiée de DPPH.

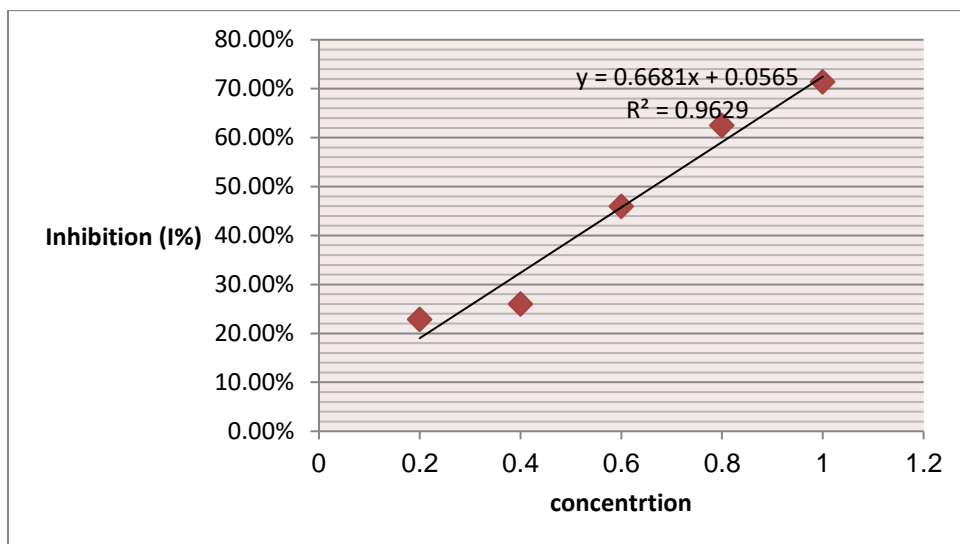


Figure (16) : Courbe pour une solution méthanolique certifiée de DPPH.

Après avoir estimé l'intensité d'absorption pour une concentration de 0,01 pour les extraits alcooliques et les composés standards acide ascorbique et α tocopherole , nous avons pu déterminer le pourcentage d'inhibition de la racine DPPH à cette concentration grâce à l'équation linéaire de pour α tocopherol l'extrait EOH et acide ascorbique pour l'extrait MOH (Figure 16).

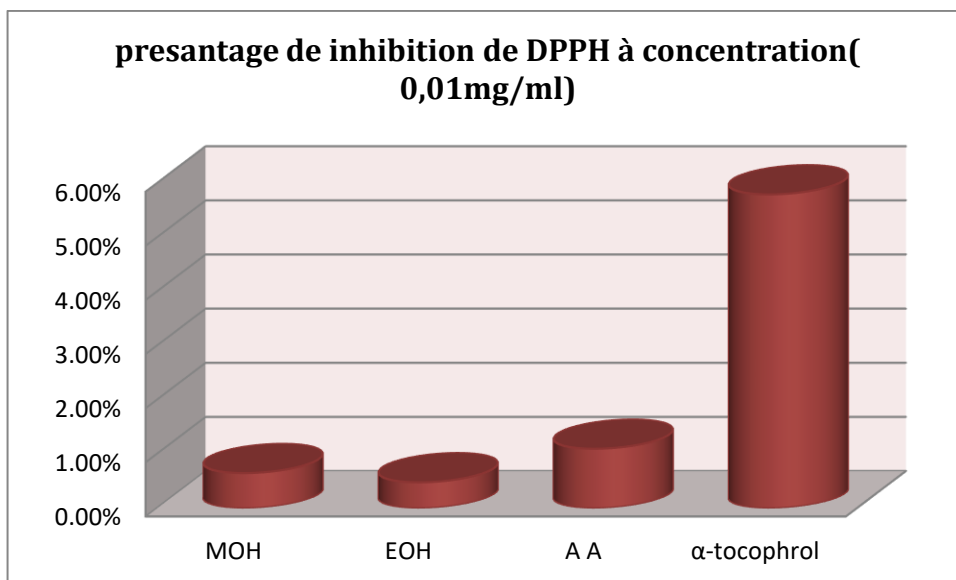


Figure (17) : pourcentage l'inhibition de radicaux libre DPPH

a- Description

En comparant le pourcentage d'inhibition de la racine DPPH à 0,01 concentration d'extraits alcooliques, nous avons observé ce qui suit

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH de l'extrait MOH était supérieur à celui de l'extrait EOH. Où le taux d'inhibition du radical DPPH avec l'acide ascorbique a été estimé à 0,0048, et le pourcentage d'inhibition radicalaire de l'extrait EOH avec α tocopherole a été estimé à 0,0065

b) Discussion

Le pourcentage d'inhibition radicalaire DPPH de l'extrait MOH est supérieur à celui de l'extrait EOH

L'extrait EOH était supérieur à l'extrait MOH dans le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH, et ces résultats sont cohérents avec les découvertes d'(Ajal et Makki,2014)

➤ IC50

L'IC50 est exprimée en concentration d'inhibiteur pour 50% du radical libre DPPH a été déterminée par les équations linéaires des courbes d'inhibition (I%) pour les extraits MOH, EOH , Acide Ascorbique et, α -tocopherole , respectivement (Voir Annexe N°2). L'activité antioxydante étant inversement proportionnelle aux valeurs d'IC50, plus les valeurs d'IC50 sont faibles, meilleure est l'activité anti-radicalaire.

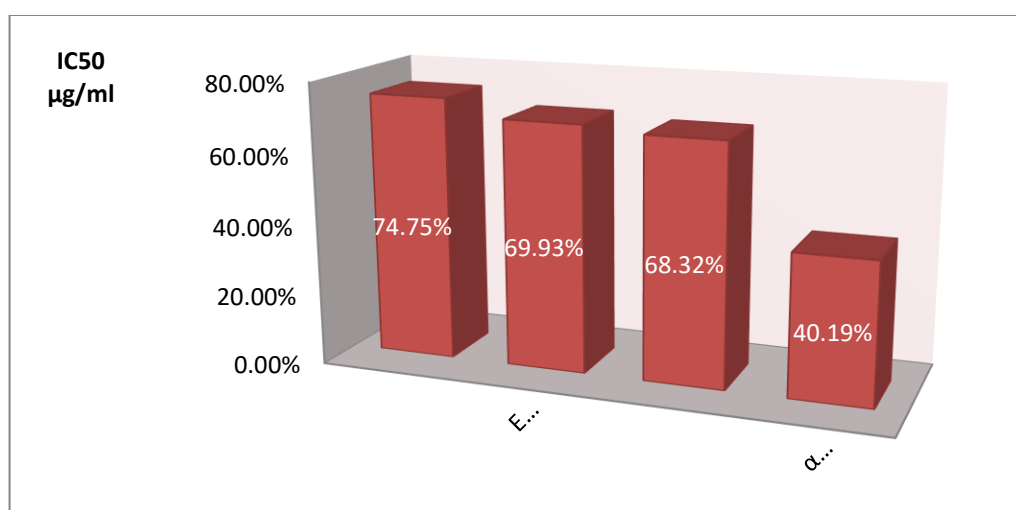


Figure (18) : valeurs IC50 inhibitrices pour 50% de racine de DPPH pour les extraits éthanolique et méthanolique, l'acide ascorbique et α -tocopherol .

a-Description

A travers le figure 17 qui montre les valeurs d'IC50, on note la supériorité du α -tocopherol avec une valeur estimée de 40.41%, suivi d'acide ascorbique avec une valeur estimée de 68.38% puis suivi de l'extrait au méthanol avec une valeur de 69.93 % comme limite inférieure de l'extrait éthanolique avec une valeur estimée de 74.75%.

b-Discussion

À travers les résultats obtenus, nous concluons que la spiruline X1 a une très faible capacité antioxydante par rapport à l'acide ascorbique et cela est dû à la diminution de certains composés fonctionnels, et par rapport à une étude qu'il a faite (**Lahocine ,2019**). Qui est venu avec la microalgue a une capacité antioxydante légèrement supérieure par rapport à celle de l'acide ascorbique (0.156 mg/ml) . Son activité antioxydante est due principalement à sa composition en polyphénols ainsi qu'aux pigments, qui semblent être liées à cette activité.

II.4.2. FRAP

Le test FRAP est considéré comme l'un des tests approuvés les meilleurs, les plus simples, les plus anciens et les plus fiables (**katalinic et al 2005**) qui étudie l'efficacité des antioxydants en termes de leur capacité à inverser divers radicaux libres, et est généralement utilisé pour étudier l'étendue de la capacité des extraits à inhiber le processus d'oxydation. La technique de ce test est basée sur la mesure des changements qui se produisent dans la photoabsorption en raison de l'apparition de la couleur bleue résultant du retour des antioxydants au composé Fe^{3+} au Fe^{2+} au milieu d'une réaction acide (**benzie1999**).

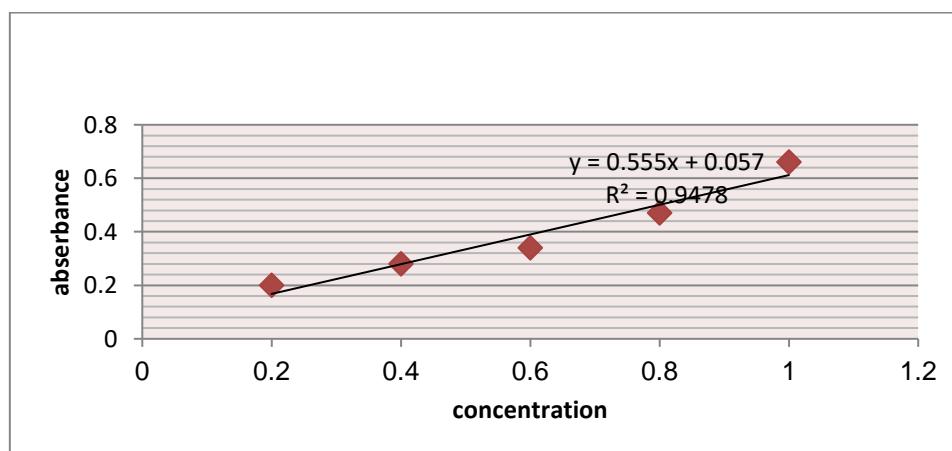


Figure (19): Courbe de l'acide ascorbique dans le FRAP.

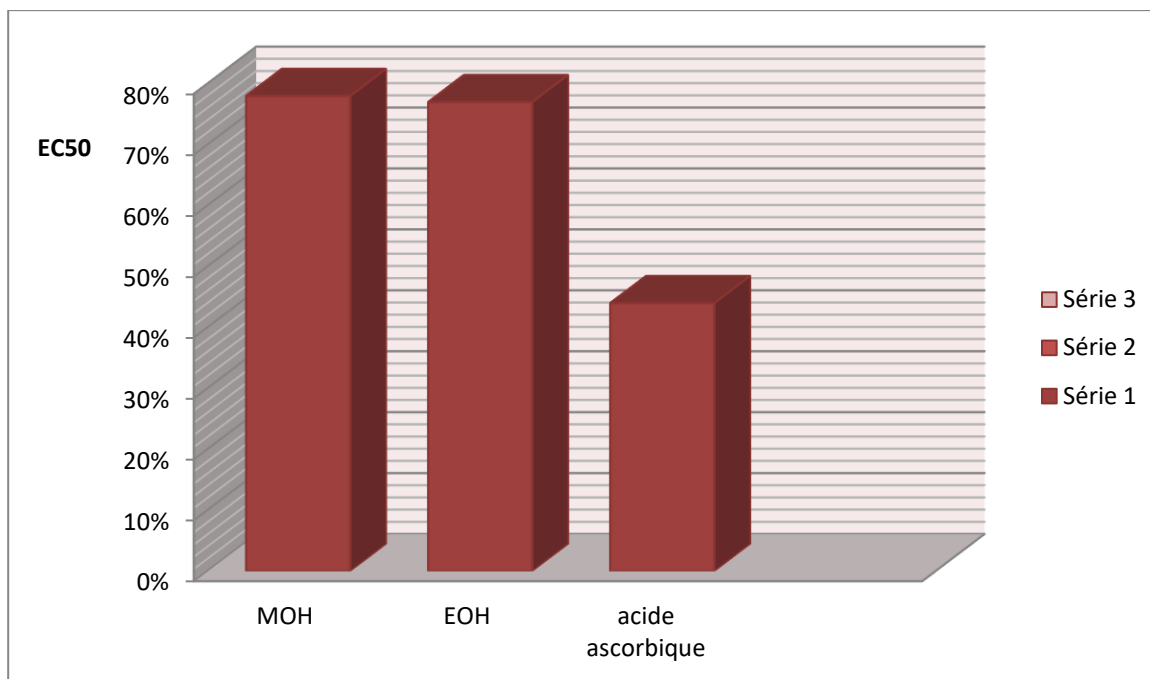


Figure (20): Valeurs de EC50 % du mélange réactionnel d'extraits méthanolique et éthanolique d'acide ascorbique pour le test FRAP .

a-Description

A travers les résultats obtenus, on constate que la capacité à réduire le fer varie selon les extraits, puisque l'on note qu'elle est plus importante dans l'extrait MOH (78%), que est sont proche a l'extrait (77%).

b-Discussion

A travers les résultats obtenus, on constate que l'extrait éthanolique de spiruline a une plus grande réversibilité que la réversibilité de l'extrait méthanolique, mais l'acide ascorbique est supérieur aux deux extraits ,ces résultat sont cohérents avec l'étude meneé par **(Charada et Awadi 2019)** qui a conclu que la capacité de réversibilité de l'extraite étudié est faible par rapport acide ascorbique. La raison du gradient de réversibilité des extraits peut être attribuée à la mesure dans laquelle ils contiennent des polyphénols et des flavonoïdes .

Conclusion

Conclusion

Les bienfaits de la spiruline sont très nombreux, il s'agit d'une algue naturelle aux propriétés nutritionnelles très intéressantes, pleines de vertus et d'effets bénéfiques sur l'organisme. Les bienfaits de la santé : lutte contre les carences alimentaires, réduit la fatigue générale (physique et intellectuelle), nettoie et purifie l'organisme (propriétés détoxifiantes), diminue le cholestérol

De notre étude, nous avons fait l'étude phytochimique et l'effet de la méthode d'extraction (macération éthanolique et méthanolique) sur la teneur quantitative en polyphénols, et étudié l'activité antioxydante de l'extrait EOH et MOH de Spiruline dans deux régions différentes en Algérie

Après la détection de métabolites secondaires, nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des phénols et des saponosides dans la spiruline X1, et X2, et l'absence d'alcaloïdes et d'anthosines dans X1 et X2. La présence de composés réducteurs et de triterpénoïdes en X1 et leur absence en X2, soit pour les tanins est présente en X2 absente dans X1.

Pour le rendement, on a obtenu un rendement de l'extrait EOH dans X1 (18.40%) et dans X2 (13.80%), est supérieur à celui de l'extrait MOH X1 (7.40%) et dans X2 (9.60%).

La mesure de teneur en polyphénols nous a permis d'avoir des teneurs de phénol élevées dans le MOH X1 (12.54 mg), X2 (7.98 mg), par rapport au EOH de X1 (2.95 mg), X2 (0.941 mg). et pour les flavonoïdes, la quantité dans les deux extraits est similaire, où MOH X1 (0.0025 mg) et X2 (0.05 mg), et pour EOH X1 (1.56 mg) et X2 (0.0087 mg).

Afin d'étudier de l'activité biologique de la spiruline, on a fait une étude sur l'activité antioxydante de la spiruline par deux méthodes différentes par DPPH et par FRAP. Dont l'activité antioxydante par DPPH ont montré que il y a une grande inhibition dans MOH avec un pourcentage de (74.75%) par rapport à celle de EOH (69.93%). Ainsi que les valeurs de IC50 de l'étalon α -tocophérol présente une valeur élevée (40.41%), suivi l'acide ascorbique avec une valeur estimée (68.38%), et pour le FRAP ont montré que les pourcentages de l'inhibition sont proches à la fois dans les extraits MOH (78%) et EOH (77%).

Nous concluons que la variation de l'activité biologique et de la composition biochimique de spiruline est due à la variation des conditions climatiques ainsi que la composition de milieux de culture de spiruline .

Références

Références

- **Abdenacer Mouffok 2021**, SYSTEMATIQUE DES PROCARYOTES, cour 3ème Année Licence de Microbiologie ,page No :32
- **Abdullah A Al-Ghanayem,2017** :Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* extracts against certain pathogenic bacteria and fungi .
- **AHOUNOU Morènikè Nadège ; 2018** : La spiruline : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation.page No.12
- **Ali Choopani, Mozghan Poorsoltan, Mohammad Fazilati, Ali Mohammad Latifi, Hossain Salavati 2017** : *Spirulina*: A Source of Gamma-linoleic Acid and Its Applications. page No. 483-488
- **Amha Belay, PhD* Scientific Director, Earthrise Nutritionals Inc., Calipatria, California,2002** : The Potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management.
- **AVIGAD VONSHAK(1978)** *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) Physiology, cell-biology and biotechnology page
- **Aziz M Higazy ;2015** : Evaluation of Chemical Composition for *Spirulina platensis* in Different Culture Media. Page No. 1163 ISSN: 0975-8585.
- **BANKS J., 2007** : Etude de la Spiruline au Palacret, Etudier la Faisabilité de la Mise en Place d'une Filière Spiruline sur le site du Palacret, dans les Côtes d'Armor, Manuel, p 10, 11.
- **BENAHMED DJILALI, A ; SLIMANI, DJ ; BENSARA, A; NABIEV, M; BOUKSAIM, M et BENAMARA S ; 2013**. Nouvelle méthode de production de *Spirulina platensis* en utilisant un milieu naturel a base de l'eau de mer, cendres de bois et la saumure de fromage. Faculté de Sciences Biologiques et Agronomiques. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou- Algerie.
- **Benhammou, N; Atik Bekkara, F; Kadifkova, P. (2007)**. Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf, *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
- **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.
- **BOUGANDOURA N; 2010** :Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthas spnepta* (nabta)et *Ajugaiva*L. (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire magister; université Tlemcen.

-
- **BOUGOFFA Samira ,HAMIDI Aicha,2020** : Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline (*Spirulina platensis*) sur différentes souches pathogènes dans la région de Ouargla.
 - **BOUTALBI SAFA** ; 2014 :. Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospira platensis*). Mémoire MASTER ACADEMIQUE, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologique.
 - **BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M.E., BERSET C., 1995-** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT*. 28: 25-30.
 - **CASAL A., 2019** : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr
 - **Debray, M ; Jacquemin, H ; Razafindrambo, R. (1971):** Travaux et documents de l'Orstom. (Paris, N°8).
 - **Diaa A Marrez, Mohamed M Naguib, Yousef Y Sultan, Zakaria Y Daw ; and**
 - **DZIRI S., HASSEN I., FATNASSI S., MRABET Y., CASABIANCA H., HANCHI B., HOSNI K., 2012-** Phenolic constituents, antioxidant and antimicrobial activities of rosy garlic (*Allium roseum* var. *odoratissimum*). *Journal of Functional Foods*. 4: 423- 432.
 - **Evoliconseil, Dupont D., Souchon I., 2014:** Structure des Aliments et Effets Nutritionnels, Edition Quae, RD 10, 78026 Versailles Cedex. P 451.
 - **FALQUET J., HURNI JP. ; 2006.** Spiruline, Aspects Nutritionnels. Antenna Technologies. P22.
 - **Fox R.D. ,1999** : Spiruline, Technique pratique et promesse. Aix en provence:EdiSud._
 - **IVANA K., MILENA N., and MIODRAG L., 2011-** Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. *Biotechnology and bioengineering chinese journal of chemical engineering*. 19 (3): 504-511.
 - **J. Falquet,J.-P. Hurni,2006** : SpirulineAspects Nutritionnels
 - **J.P. Jourdan, 2013 ;** MANUEL DE CULTURE ARTISANALE DE SPIRULINE page No,03

-
- **LAHOUCINE Halima Amina ;2019** : Etude de l'impact de l'incorporation de la Spiruline sur la qualité organoleptique et physicochimique de la Mayonnaise.page No,9
 - **Loïc Charpy, Marie José Langlade et Romain Alliod ;aout 2018** : « La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? » pag 6.
 - **Martba Sánchez1, Jaime Bernal-Castillo1, Camilo Rozo2, Ignacio Rodríguez3(2003)** ;SP/RULINA (ARTHROSPIRA): AN EDIBLE MICROORGANISM
 - **Martba Sánchez1, Jaime Bernal-Castillo1, Camilo Rozo2, Ignacio Rodríguez3,2003** : SP/RULINA (ARTHROSPIRA): AN EDIBLE MICROORGANISM: A REVIEW
 - **Merceron M.,2006** :Les bactéries photosynthétiques productrices d'oxygène [en ligne]. C2006. [Consulté le : 15/5/2020]. Disponiblesur:<http://membres.lyco.fr/neb5000/BacteriologieI/GroupesBacteriens/Bacteriesphotosynthetiquesproductricesdoxygene.htm>.
 - **ORDONEZ A.A.L., GOMEZ J.D., VATTUONE M.A., ISLA M.I., 2006-** Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq). *Food Chem.* 97:452-458.
 - **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44: 307-315.
 - **Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C. (2002).** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*; 50: 6882–90.
 - **Paris R ,et Moyse, H. (1969).** Précis de matière médicale. Paris : Masson.
 - **Paulina Nowicka-Krwczyk , Radka Muhlsteinova , Tomas Hauer ;2019,** Detailed characterization of the arthrospira type species separating commercially grown taxa into the new genus limnospira (cyanobacteria).page No :03
 - **SINGLETON V.L, ROSSI J.A., 1965-** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 16 (3): 144-158.
 - **TOUDERT Mebarka et BOUZIDI Ounissa ; 2020** : Intérêt de l'utilisation de la spiruline dans les aliments fonctionnels ; pag No :15
 - **TREMBLIN G., MOREAU B., 2017** : La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle ? Article, Le Mans Université.

-
- **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.
 - **W. Shaoa*, R. Ebaida*, M. El-Sheekhc, A. Abomohrab,c,* and H. Eladeld ,2019** : Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of Spirulina (Arthrospira): An overview.
 - **ZHISHEN J., MENGCHENG T., JIANMING W., 1999-** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scanenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*. 64 (4): 555- 559.

Annexes

Annexe 01



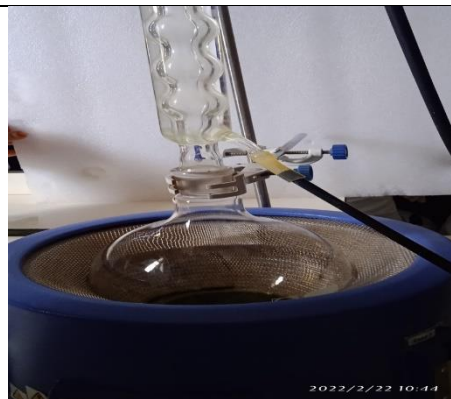
Rotavapeur



Balance électrique



Bain marie



Réfergerone



Spectrophotomètre



plaque chauffant

Annexe 02

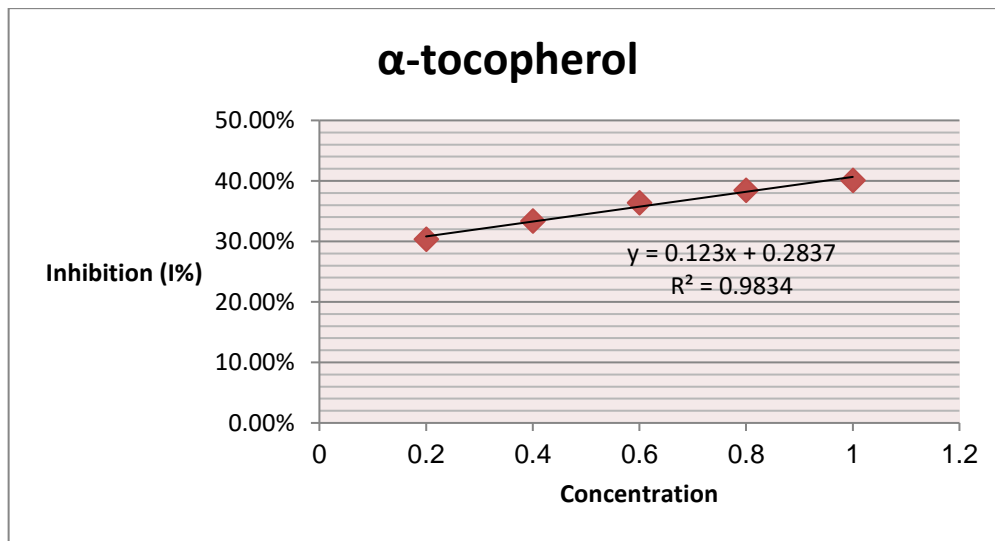


Figure 01 : courbe d'étalonnage de α-tocopherol dans l'extrait éthanolique de DPPH.

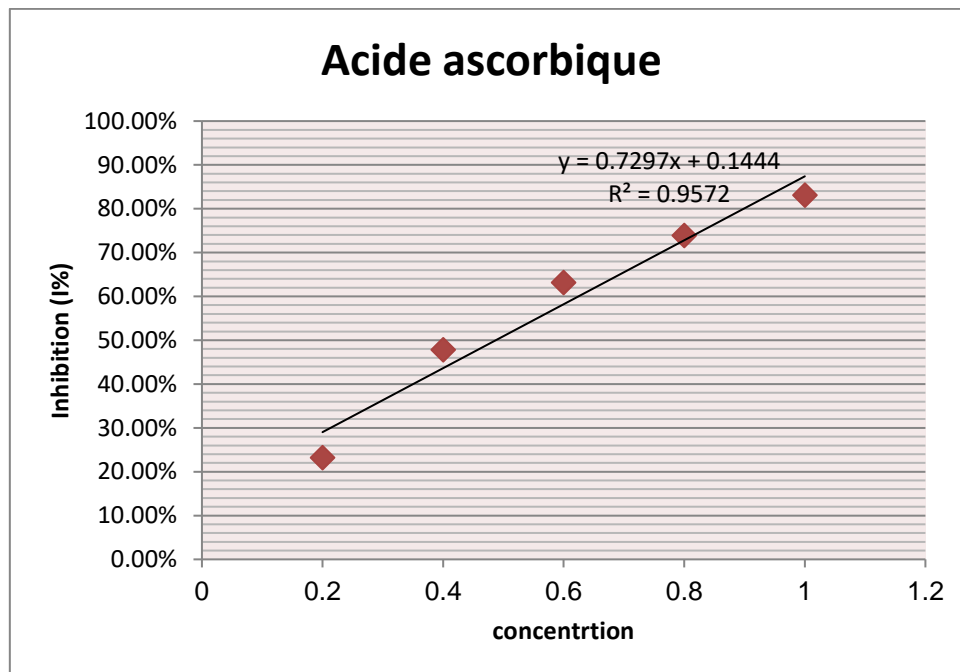


Figure 02 : courbe d'étalonnage d'acide ascorbique dans l'extrait méthanolique de DPPH.