

N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

Culture de la spiruline et son utilisation dans divers domaines

Présenté par :

- ROUBA Sonia
- ABDERREZEK Nihal
- MOUZA Kenza

Devant le jury composé de :

Encadreur : BOUKERIA. S

M.C.A Centre Universitaire de Mila.

Examinatrice : BEN MAKHLOUF. Z

M.C.A Centre Universitaire de Mila.

Présidente : LEMZAOUDA. R

M.C.A Centre Universitaire de Mila.

Représentant du partenaire économique

Année Universitaire : 2022/2023



Remerciements

*Louange à Allah, Le Très-Savant, Le donneur de force et de volonté,
par sa grâce nous avons terminé ce travail.*

*Nous tenons à remercier en premier lieu notre encadreur
M^{me} BOUKARIA Sabah, pour sa rigueur, sa disponibilité et ses
qualités humaines, pour avoir aussi accepté de diriger ce mémoire
tout en ayant l'obligeance de consacrer de son temps précieux pour
donner des conseils très utiles qui nous permis d'enrichir et de mener
à bien ce travail.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury, pour avoir
acceptés de juger notre travail.*

*Nous remercions également nos parents qui n'ont pas cessé de nourrir
notre motivation pour ce travail et qui nous assistés par leurs
encouragements.*

*Nos remerciements laboratoire **Dr.Mirouh** pour ses conseils
éclairés ses encouragement, ses efforts avec nous, sa gentillesse ; à
tout le personnel du laboratoire Mirouh d'analyses médicales.*

*Nous remercions aussi **M. DAOUDI Hamza** pour ses efforts.*

*Finalement, nous remercions toutes celles et tous ceux qui nous ont
aidé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Je tiens à dédier cette mémoire,

*À mes parents (**HAMOU et SOUAD**), vous m'avez toujours soutenue, encouragée, supportée durant ces longues années d'études, vous avez toujours cru en moi. Merci pour tout ce que vous faites pour moi. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération, et mon amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon bien-être.*

*À Mes chères frères (**KAMAL EDDINE, WALAA EDDINE et SAADE EDDINE**) pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse, qui m'ont consacré beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien, leurs conseils et leur amour, m'ont permis d'arriver jusqu'à ici car ils ont toujours cru en moi, Merci d'avoir toujours soutenu.*

*À mon grand-père (**MASSAOUD**) qui m'a toujours transmis son vaste savoir, sa joie de vivre et ses précieux conseils, je te dédie ce travail.*

*À ma grand-mère (**Nouara**) qui m'a toujours encouragé avec ses conseils précieux, je te dédie ce travail.*

Que dieu vous protège et vous accorde une longue vie inchaAllah pleine de santé et de bonheur.

*À mon oncle et mes tantes et mes proches amis (**Sonia et Dalila**) merci pour leurs amours et encouragements.*

*À mon trinôme (**Sonia et Kenza**) pour leurs soutiens moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

À moi, merci pour tes efforts et pour ta patience dans les situations les plus difficiles et pour ne pas abandonner, je suis fière de toi

Merci à tout

Nihal

Dédicace

Dédicace A l'homme de ma vie , mon exemple éternel , celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir , à toi mon père (Alhadj)

A ma mère (Messaouda) pour son amour, et qu'elle m'a toujours accordé en témoignage de ma reconnaissance envers sa confiance , ses sacrifices et sa tendresse .

A ma chère sœur (Ahlem).

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur , mon fiancée (Djihad).

A mes chères frères et toute ma famille.

A toutes mes amies surtout(Nihal.Dalila.Ahlem).

Et à tous ceux qui aiment le bon travail et ne reculent pas devant les obstacles de la vie .

À mon trinôme (Nihal et Kenza) pour leurs soutiens moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Sonia

Dédicace

*À mes chères parents « **AISSA** et **SAIDA** »*

Sources de mes joies et secret de ma force

*Mes dédicaces s'adressent également à mes chers frères « **Mounir** et **Aissam** »*

À toute ma famille ,

Pour leur soutien et dévouement

*À mon prof de tout « **Hamza cheurfi** » pour sa disponibilité et son aimable*

soutien

*À mon trinome « **Sonia** et **Nihal** » pour leur vraie amitié Et à tous mes proches*

*amis « **Leila** , **Bouchra** , **Romaissa**,,, »*

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que

nous avons passé ensemble

Et à tous ceux..... Qui m'aiment et que j'aime



Kenza



Table des Matières

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction	1

Partie bibliographique

Chapitre I : Présentation de la spiruline

I.1. Généralités	5
I.2. La souche de Arthrospira.....	6
I.2.1. Les différentes formes des Arthrospira.....	6
I.3. Classification	6
I.4. Reproduction	6
I.5. Composition chimique et aspects nutritionnels	7
I.5.1. Les protéines	8
I.5.2. Les lipides	8
I.5.3. Les glucides	9
I.5.4. Acides nucléiques (ADN et ARN).....	9
I.5.5. Pigments.....	9
I.5.6. Les enzymes.....	10
I.5.7. Vitamines	10
I.5.8. Minéraux.....	10
I.6. Principales applications de la spiruline	11
I.6.1. En alimentation humaine	11

I.6.2. En alimentation animale	12
I.6.3. En cosmétique	12
I.6.4. En thérapeutique	13
I.6.5. En agroalimentaire	13
I.6.6. Applications médicinales de la spiruline	13
I.7. La spiruline dans les pathologies lourdes	14
I.8. Toxicologie et nutrivigilance	14

Chapitre II : Activités biologique de la spiruline

II.1. Activité anti-oxydante	17
II.2. Activité antimicrobienne (mémoire final)	17
II.3. Activité anticancéreuse	18
II.4. Activité antivirale	18
II.5. Activité anti-inflammatoire	19
II.6. Activités anti-toxicité	19

Chapitre III : Culture de la spiruline

III.1. Culture de la spiruline	21
III.1.1. Milieu de culture	21
III.1.1.1. L'eau	22
III.1.1.2. Les éléments nutritifs	22
III.1.2. Conditions de culture	23
III.1.2.1. La Température	23
III.1.2.2. PH	23
III.1.2.3. L'agitation	23
III.1.2.3.1. Influence de la lumière sur la croissance de la spiruline	24
III.1.3. Les systèmes de culture	24
III.1.3.1. Les bassins artificiels ouverts	24
III.1.3.2. Les cultures en milieu contrôlé : le photo bioréacteur	25
III.1.4. Les modes de cultures	25
III.1.4.1. Le mode batch	26

III.1.4.2. Le mode continu ou mode flow	27
III.1.4.3. Le mode fed-batch ou semi continu	27
III.1.5. Récolte.....	27
III.1.6. Séchage	28
III.1.7. Tests avant la mise sur le marché.....	28
III.1.8. Formes et modalités d'achat.....	28
III.1.9. Conseils d'utilisation.....	29
III.1.9.1. Posologie	29
III.1.9.2. Effets secondaires	30
III.1.9.3. Avis et expériences vis-à-vis de la spiruline	30
III.1.9.4. Conseils associés	31

Étude expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Matériel et méthodes :	34
I.1.1. Matériel :.....	34
I.1.2. Méthodes.....	34
I.1.2.1. Culture de la Spiruline :	34
I.1.2.1.1. Préparations des milieux de cultures	34
I.1.2.1.2. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu)	40
I.1.2.2. Evaluation des activités biologiques :	41
I.1.2.2.1. Activité anticoagulante	41
I.1.2.2.2. Etude de l'activité antibactérienne	44

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Résultats de culture	50
II.1.1. Observation microscopique	50
II.1.2. Couleur	50
II.1.3. Récolte	51
II.2. Résultats de l'extraction et de dosage des polyphénols totaux	51

II.2.1. Rendements d'extraction	51
II.2.2. Dosage des polyphénols totaux d' <i>Arthrospira platensis</i>	52
II.3. Détermination de l'Activité anticoagulante de la spiruline.....	53
II.4. Détermination de l'Activité antibactérienne de la spiruline.....	55
II.4.1. Détermination de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de DMSO	55
II.4.2. Résultat de l'activité antibactérienne de l'espèce étudiée	57
Conclusion et perspectives	61
Références bibliographiques.....	64
Annexes	72



Liste des figures

Figure 01 : Cycle biologique de la spiruline	7
Figure 02 : Comparaison en teneur protéique de la spiruline avec d'autres aliments	7
Figure 03 : Exemples de bassins de spiruline. A droite des bassins améliorés à Hawaï.....	25
Figure 04 : Image d'un photo bioréacteur.....	25
Figure 05 : Courbe de croissance des micro algues en mode batch	26
Figure 06 : Pesage des réactifs chimiques pour le milieu Zarrouk.....	35
Figure 07 : les éléments chimiques de milieu Zarrouk.....	36
Figure 08 : les éléments chimiques de milieu NPK 20-20-20+T.E.....	37
Figure 09 : culture de la spiruline dans les deux milieux. (a) : le milieu NPK. (b) : le milieu Zarrouk).....	38
Figure 10 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait méthanolique.	39
Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols totaux	40
Figure 12 : étapes de la voie endogène (TCK).....	42
Figure 13 : Etapes de la voie exogène (TQ).....	43
Figure 14 : étapes de préparation de l'inoculum et méthode de diffusion des disque	47
Figure 15 : Observation microscopique de la spiruline (photo personnelle,2023).....	50
Figure 16 : la récolte de spiruline ((a)filtration (b)milieu Zarrouk (c)milieu NPK)	51
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	53
Figure 18 : Capacité anticoagulante de la spiruline vis-à-vis de la Voie endogène TCK.	54
Figure 19 : Capacité anticoagulante de la spiruline vis-à-vis de la Voie exogène TQ.....	55
Figure 20 : Effet des antibiotiques et de DMSO sur les bactéries testées (photo personnelle , 2023).....	57



Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition qualitative et quantitative possible en pigments de la spiruline ...	10
Tableau 02 : Composition qualitative et quantitative possible en minéraux de la spiruline et apport par rapport aux AJR	11
Tableau 03 : Milieu de culture de référence, le milieu Zarrouk.....	22
Tableau 04 : Exemples de posologies utilisables pour la spiruline.....	29
Tableau 05 : Compositions de milieu de culture.....	35
Tableau 06 : Composition de la solution A5, en g/l.....	36
Tableau 07 : Liste des souches bactériennes étudiées.....	44
Tableau 08 : évaluation de l'activité antibactérienne selon diamètre d'inhibition	48
Tableau 9 : Couleurs du milieu de culture avec leur signification.....	50
Tableau 10 : Rendement d'extraction à partir de la souche Algérienne.	52
Tableau 11 : Diamètre des zones d'inhibition des deux antibiotiques (témoin positif) testés et de DMSO (témoin négatif)	56
Tableau 12 : diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par l'extrait de spirulina platensis	58

*Liste des
abréviations*

Liste des abréviations

Sp-Ca: spirulane calcique

Sp-Na: spirulane sodique

FDA : Food and Drugs Association

GRAS : : Generally Reconized As Safe

SOD : Superoxyde dismutase

MICI : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

HSV : Herpès Simplex Virus

CMV : Cytomégalovirus humain

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIH-1 : Virus de l'Immunodéficience Humaine-1

TNF- α : Tumor Necrosis Factors α

COX-2 : Cyclo-oxygénase-2

PE : Phycoérythrine

PC : Phycocyanine

APC : Allophycocianine

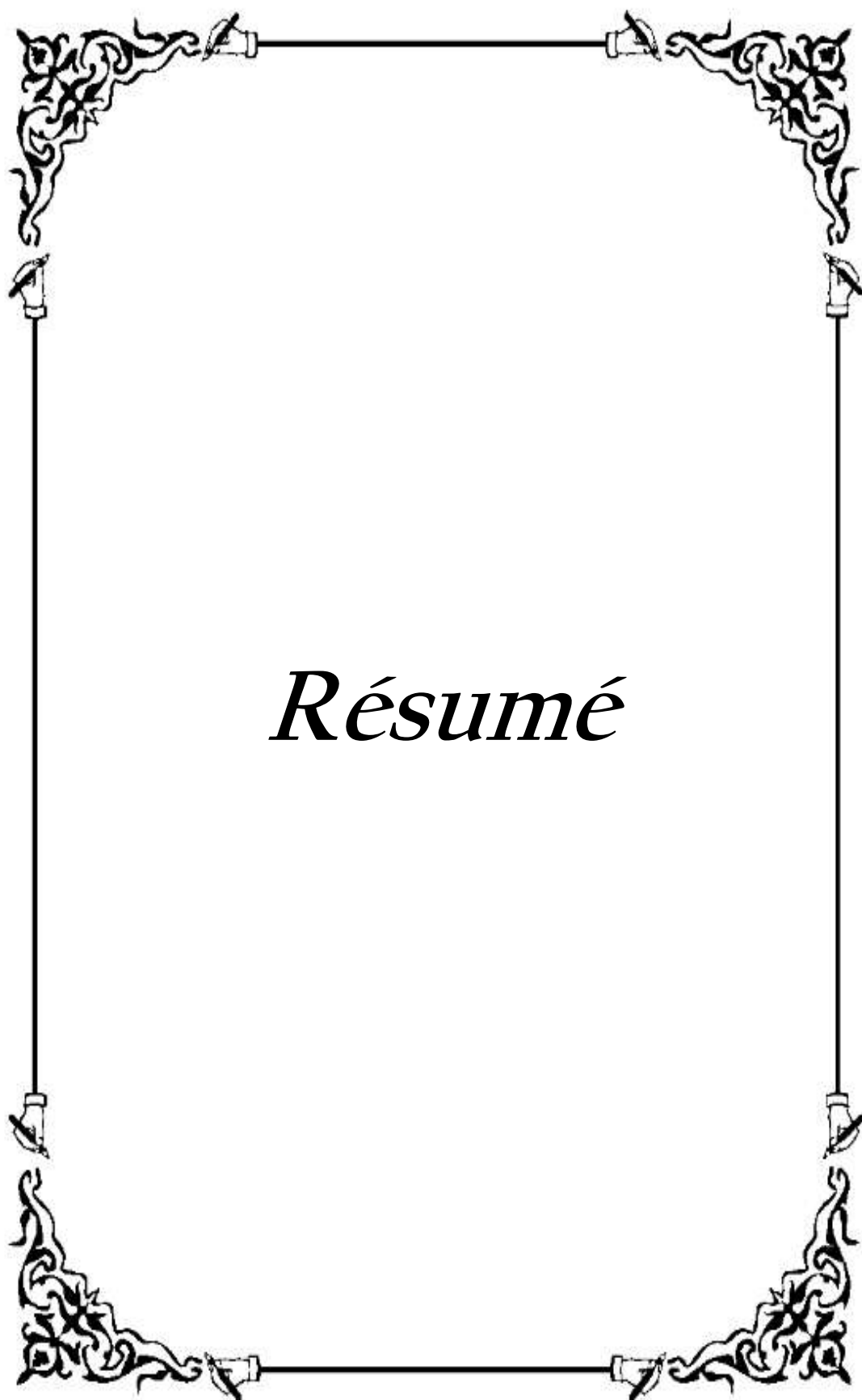
CO₂ : dioxyde de carbone

UNESCO : Organisation des nation unies pour l'éducation ,la science et la culture .

ISO : Organisation internationale de normalisation.

HACCP :Hazard analyse critique control point .

Td : Temps de doublement



Résumé

Résumé

Arthrospira platensis, plus couramment appelée spiruline, est une cyanobactérie filamenteuse ou algues bleu vertes qui prolifère facilement dans les lacs alcalins et eaux saumâtres du monde entier. Le but de ce travail est d'étudier la qualité biochimique de la souche *A. platensis* cultivé à partir de milieu de culture à base d'NPK. Tout d'abord, nous avons préparé le milieu de culture de " Zarrouk et NPK ". Nous avons également préparé le dispositif expérimental approprié pour réaliser une bonne croissance d'*A. platensis* et pour apprendre bien les différentes cultures de la souche. Le milieu de Zarrouk est considéré comme le meilleur milieu pour la croissance de l'*Arthrospira platensis* en fournissant toutes les conditions nécessaires à la croissance. Néanmoins, le milieu de NPK n'est pas moins important que le milieu de Zarrouk en termes de qualité biochimique. Là où nous étions en mesure d'obtenir une biomasse de 2 g au milieu de Zarrouk et de 1.05 g au milieu NPK. Enfin, nous concluons que la spiruline a la capacité de croître malgré les différents facteurs climatiques si nous leur fournissons le centre agricole appropriée et que la base de bicarbonate de sodium et d'autres éléments chimiques qui leur fournissent les conditions de sa croissance.

L'extrait méthanolique de *S. platensis* a été évalué pour son activité anticoagulante, nous avons pu prouver que la spiruline ne présente aucun effet sur la coagulation du sang donc elle est idéale grâce à ses ingrédients de sa composition chimique brevetés en particulier son intérêt contre un risque d'hémorragie parfois fatale.

L'évaluation s'est faite également pour son activité antibactérienne contre deux bactéries Gram positives (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*), et deux bactéries Gram négatif (*Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli*). L'extrait hydrométhanolique de notre espèce a montré une certaine activité antibactérienne contre deux souches bactériennes, avec le spectre d'activité le plus important (12 mm) contre *Staphylococcus aureus*.

Mots clés :

Arthrospira platensis, spiruline, milieu de culture, cyanobactérie, extrait méthanolique, activité antibactérienne, activité anticoagulante

Abstract

Arthrospira platensis, more commonly known as spirulina, is a filamentous cyanobacterium or blue-green algae that easily thrives in alkaline lakes and brackish waters around the world. The aim of this work is to study the biochemical quality of the strain *A. platensis* cultivated from culture medium based on NPK. First, we prepared the culture medium of "Zarrouk and NPK". We have also prepared the appropriate experimental to achieve good growth of *A. platensis* and to know the different cultures of the strain. Zarrouk's medium is considered to be the best medium for the growth of *Arthrospira platensis* by providing all the conditions necessary for growth. Nevertheless, the NPK medium is no less important than the Zarrouk medium in terms of biochemical quality. Where we were able to obtain a biomass of 2 g in the Zarrouk medium and 1.05 g in the NPK medium. Finally, we conclude that spirulina has the ability to grow despite different climatic factors if we provide them with the appropriate agricultural center and the base of sodium bicarbonate and other chemical elements that provide them with the conditions for its growth.

The methanolic extract of *S. platensis* has been evaluated for its anticoagulant activity, we have been able to prove that spirulina has no effect on blood coagulation therefore it is ideal thanks to its patented chemical composition ingredients in particular its interest against risk of sometimes fatal haemorrhage .

The evaluation was also made for its antibacterial activity against two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), and two Gram-negative bacteria (*Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli*). The methanolic extract of our species showed some antibacterial activity against two bacterial strains, with the largest spectrum of activity (12 mm) against *Staphylococcus aureus*.

Keywords:

Arthrospira platensis, spirulina, culture medium, cyanobacteria, antibacterial activity, The methanolic extract, anticoagulant activity.

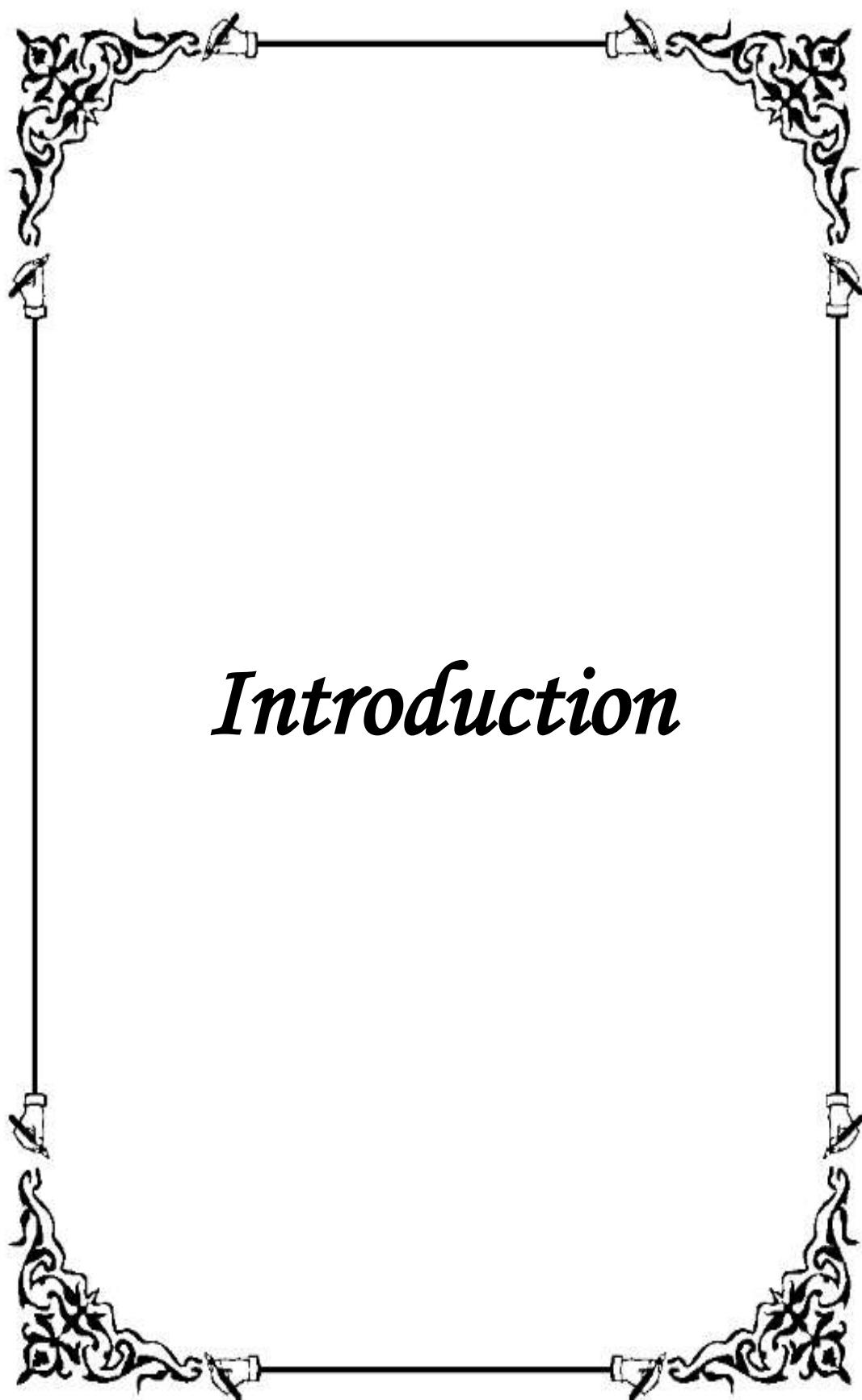
ملخص

Arthrospira platensis، المعروف أكثر باسم سبيرولينا، هو بكتيريا زرقاء خيطية أو طحالب خضراء مزدهرة تزدهر بسهولة في البحيرات القلوية والمياه المالحة حول العالم. الهدف من هذا العمل دراسة الجودة البيوكيميائية لسلالة A. *platensis* المزروعة من وسط استزراع يعتمد على NPK أولاً ، أعدنا وسط الاستزراع "زروق و NPK " وأعدنا أيضاً التركيب التجريبي المناسب لتحقيق نمو جيد لسلالة A. *platensis* ولمعرفة الأوساط المختلفة للسلالة . يعتبر وسط زروق أفضل وسيلة لنمو السبيرولينا بتوفير جميع الظروف اللازمة للنمو. ومع ذلك ، فإن وسط NPK لا يقل أهمية عن وسط زروق من حيث الجودة البيوكيميائية . حيث تمكنا من الحصول على كتلة حيوية مقدارها 2 غ في وسط زروق و 1.05 غ في وسط NPK . أخيراً ، نستنتج أن السبيرولينا لديها القدرة على النمو على الرغم من العوامل المناخية المختلفة إذا زودناها بالمركز الزراعي المناسب وقاعدة بركونات الصوديوم والعناصر الكيميائية الأخرى التي توفر لها الظروف اللازمة لنموها تم إجراء التقييم أيضاً لنشاطه المضاد للتخثر ، وتمكنا من إثبات أن سبيرولينا ليس له أي تأثير على تخثر الدم، لذا فهو مثالي بفضل مكوناته الحاصلة التي تؤكد تركيبه الكيميائي، ولا سيما أهميته ضد خطر حدوث نزيف قاتل في بعض الأحيان تم أيضاً تقييم المستخلص الميثانولي لنبات بلاتنيسيس لنشاطه المضاد للبكتيريا ضد نوعين من البكتيريا موجبة الجرام (*Staphylococcus aureus*) ، (*Bacillus subtilis*) ، واثنين من البكتيريا سالبة الجرام (*Pseudomonas* *aureginosa* (*Escherichia coli*)).

أظهر المستخلص الميثانولي لنوعنا بعض النشاط المضاد للبكتيريا ضد سلالتين من البكتيريا ، مع أكبر طيف من النشاط (12 ملم) ضد المكورات العنقودية الذهبية.

الكلمات المفتاحية:

نشاط مضاد للجراثيم *Arthrospira platensis* ، سبيرولينا، وسط الاستزراع، البكتيريا الزرقاء، المستخلص الميثانولي، نشاط مضاد للتخثر.



Introduction

Introduction

Les cyanobactéries, anciennement appelées algues bleues, compte parmi l'une des plus anciennes formes de vie sur Terre et constitue l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse et production d'oxygène. Dans ce groupe, existe le genre *Spirulina* ou *Arthrospira*, des cyanobactéries filamenteuses dont fait partie une bactérie particulièrement intéressante dénommée *Spirulina platensis* (ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de algues spiruline.

En effet, la spiruline est présentée comme le meilleur aliment pour l'avenir « the best food for the future » lors de la conférence des Nations Unies sur l'Alimentation en 1974. Pour l'UNESCO, elle est considérée comme « l'aliment idéal et le plus complet de demain » et « l'une des meilleures sources de protéines » pour la FDA, la spiruline est mise en avant par plusieurs structures au sein de l'ONU et de l'OMS pour son utilisation dans la lutte contre la malnutrition aigüe dans le monde (Soizic Louvel, 2019).

Outre des propriétés nutritionnelles avérées, la spiruline connaît aujourd'hui un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique internationale du fait de sa possible utilisation comme source de produits à vertus thérapeutiques. En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique. Certaines études ont en outre mis en évidence des activités sur le système immunitaire, le cancer, le sida mais aussi des effets dans la lutte contre le vieillissement cellulaire, des propriétés hépato protectrices, anti-inflammatoires. La spiruline semble avoir un potentiel très vaste.

« Que votre nourriture soit votre médecine et votre médecine soit votre nourriture »

Cette étude intitulée « la culture de spiruline et ses utilisations » a pour objectifs énoncés ci-dessous :

- Produire et valoriser une espèce d'algue (*Spirulina platensis*) ou (*Arthrospira platensis* L), Pour ce fait nous avons procédé à une culture d'une souche de cette espèce et de valoriser le produit final de la culture dans la production et la fabrication d'une gamme de produits cosmétiques et un produit alimentaire
- Réaliser une étude sur l'activité antibactérienne et anticoagulante de l'extrait méthanolique de la spiruline produite.

Notre travail est structuré en deux parties.

La première partie est consacrée à une actualisation de la recherche. Cette partie renferme trois chapitres :

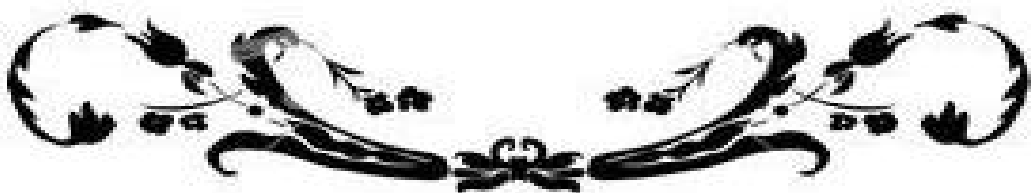
- Le premier chapitre permettra de découvrir une présentation sur la spiruline ou des généralités sur l'Arthrospira (*Spirulina platensis*), ses caractéristiques et sa composition.
- Le deuxième chapitre présente les différentes activités biologiques de la spiruline.
- Le troisième chapitre présente les différentes techniques et modes de cultures existants actuellement à travers le monde, les différents modes de consommation, et les risques de toxicité seront également traités.

Pour **la deuxième partie** nous avons évoqué la partie expérimentale qui traite le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la réalisation de travail et regroupe l'ensemble des résultats qui seront par la suite suivis d'une discussion.

En fin une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude sera donnée et complétée par d'éventuelles perspectives qui seront dégagées.

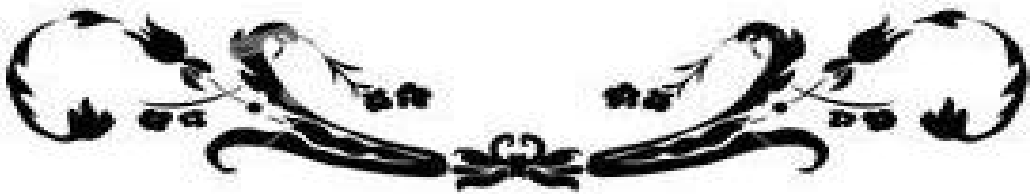


Partie bibliographique





Chapitre I :
Présentation de la
spiruline



I.1. Généralités

Les cyanobactéries forment un grand nombre de bactéries capables de photosynthèse et de production d'oxygène. Elles peuvent être unicellulaires ou multicellulaires ; dans ce dernier cas, leurs cellules s'organisent en t'en amas ressemblant à des colonies ou, plus se dégagent, en filaments composés de cellules alignées

Les cyanobactéries ont un système photosynthétique proche des végétaux chlorophylliens. Elles sont des photo-litho-autotrophes :

- Photo- car elles pratiquent la photosynthèse en réduisant le CO₂ à la lumière,
- Litho- car elles se nourrissent de minéraux,
- Autotrophe à la fois au carbone et à l'azote car ils peuvent convertir l'azote atmosphérique en ammonium ou en nitrates, leur permettant de produire des acides aminés et des protéines. Les algues produisent près de 90% de l'oxygène de la planète soit 330 milliards de tonnes par an (10% étant produits par les arbres et les plantes). En absorbant le dioxyde de carbone, elles permettent de lutter contre le réchauffement climatique.

La spiruline fait partie des Cyanobactéries. Ils sont apparus sur Terre il y a environ 3,5 milliards d'années et il en existe environ 1 500 espèces. Dans un processus complexe qui libère de l'oxygène, ils sont capables de transformer le gaz carbonique en matière organique (**Soizic Louvel.,2019**).

La spiruline est une algue microscopique de forme spiralée. En effet, elle se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire (appelé trichome) bleu-vert, mobile, non ramifié et enroulé en spirale. Ce filament de forme hélicoïdale et observable uniquement en milieu liquide au microscope caractérise le genre.

Contrairement à certaines autres cyanobactéries, la spiruline ne possède pas de cellules spécialisées appelées hétérocystes qui lui permettent de réparer l'azote en suspension dans l'air. La taille de la spiruline varie suivant la souche et les conditions de culture.

La longueur moyenne des filaments est d'environ 250 µm, avec un diamètre d'environ 10 µm, selon l'observation.

Cependant, on observe une longueur moyenne du filament de l'ordre de 250 µm et avec un diamètre d'environ 10 µm (**F. Ripley.,1999**).

I.2. La souche de *Arthrospira*

Arthrospira (*Spirulina platensis*) est une micro algue distribuée mondialement dont la production mondiale a augmenté de plus de 4000 tonnes/an depuis 1995 (**Cubia Statistics, 2000**).

I.2.1. Les différentes formes des *Arthrospira*

En ce qui concerne les différentes souches d'*Arthrospira platensis*, on distingue les souches "spiralées", "ondulées", et "droites".

Les souches "spiralées", représentent les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (Inde) et "Toliara"

Les souches "ondulées", le terme "ondulées" représentent les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (Pérou)

Les souches "droites", le terme "droites" représentent les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes. (**FALQUET.,1999**)

I.3. Classification

Autrefois considéré comme une simple algue, il s'agit en fait d'un organisme procaryote dépourvu d'organismes intracellulaires et peut être classé comme suit :

- Règne : Bacteriae
- Phylum : Cyanobacteriae
- Sous-classe : Oscillatorioophycideae
- Ordre : Oscillatoriales
- Famille : Microcoleaceae
- Sous-genre : *Arthrospira*

Il existe plusieurs espèces sous le genre, mais nous nous concentrerons sur *Arthrospira platensis*. Cette espèce est également connue sous le nom de *Spirulina platensis* (**Morgan Proy.,2019**)

I.4. Reproduction

La reproduction est asexuée de la spiruline se fait par simple scission, bourgeonnant, voire fragmentation aléatoire. Le processus se déroule comme suit :

- Des nécriidies, qui ressemblent à des disques de séparation.
- Ce trichome horizontal se fragmente, formant ainsi deux nouveaux filaments, appelés hormogonies (**figure 1**).
- Elles vont croître jusqu'à maturité par simple division cellulaire (une cellule donnant naissance à deux etc.) et adopter la forme typique connue de la spiruline (**Habib MAB.,2008**).

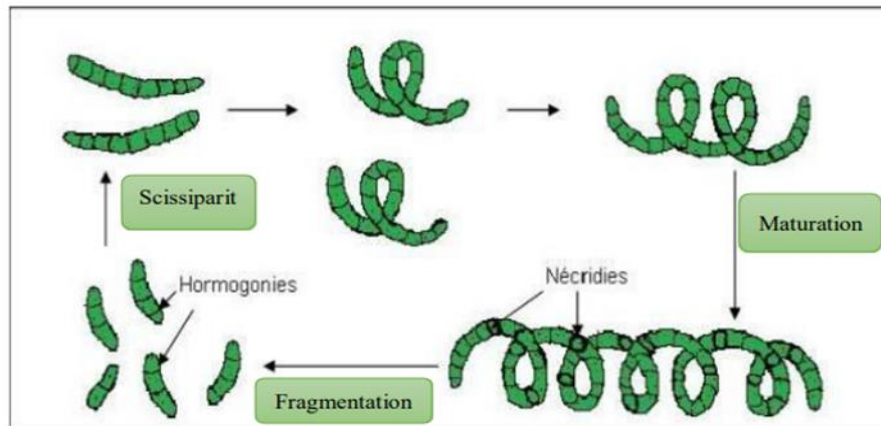


Figure 01 : Cycle biologique de la spiruline (Charpy et al., 2008).

I.5. Composition chimique et aspects nutritionnels

Avec une teneur moyenne en protéines de 50 et 70 % la spiruline contient plus de protéines que la plupart des aliments courants. A titre de comparaison, dans la viande et le poisson, la teneur moyenne en protéines est de l'ordre de 15 à 20 %, dans le soja, 35 % et dans les œufs, 12 % (**figure 2**). De plus, la digestibilité des protéines de la spiruline est élevée (entre 75 et 83 %) du fait de l'absence de paroi cellulosique des cellules (**E. M. Gaydou.,2004**)

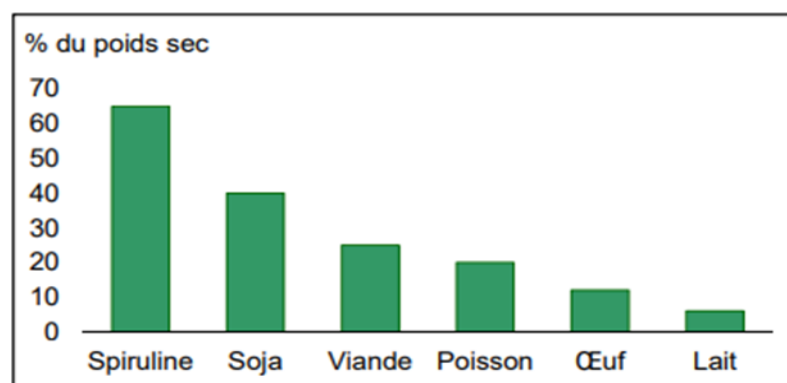


Figure 02 : Comparaison en teneur protéique de la spiruline avec d'autres aliments (N'goran Urbain Florent Niangoran., 2017)

- **Composition de la spiruline**

La composition de la spiruline varie en fonction des conditions de culture, du moment de la récolte, de l'origine géographique, du mode de récolte, de séchage, de couvaison et de conditionnement, ainsi que du taux d'ensoleillement et du fait que certains industriels complètent la culture environnements pour produire une spiruline plus riche en fer, en zinc ou en acides gras. (Soizic Louvel.,2019)

I.5.1. Les protéines

Les le plus abondantes molécules organiques dans le corps humain sont les protéines, nécessaires à la vie. Ils prennent la forme d'enzymes, d'hormones, d'anticorps et d'autres molécules qui réparent les tissus et maintiennent l'équilibre acido-basique de l'organisme.

20 acides aminés sont les éléments constitutifs des protéines ; 12 de ces acides peuvent être produits par l'organisme, tandis que les 8 autres sont considérés comme essentiels et doivent être apportés par l'alimentation.

50 et 70 % de son poids sec en protéines, avec des variations de 10 à 15 % selon le moment de la récolte. Associée à des concentrations de protéines plus élevées. Les acides aminés essentiels sont présents, constituant 47 % du poids total des protéines.

Les acides aminés les moins représentés sont le tryptophane et ceux soufrés (méthionine, cystéine et lysine).

I.5.2. Les lipides

Avec un apport calorique de 9 kcal/g dans le cas de la spiruline, les lipides servent de source d'énergie de réserve (J. Falquet et J. P. Hurni .,1986) (A. L. Lupatini, et al .,2017).

Il n'y a pas beaucoup de graisses saturées d'acides gras dans la spiruline. (Par ex. palmitique, stéarique, arachidique) ainsi que beaucoup d'acides gras poly insaturés (AGPI) (25 à 60 % des lipides totaux). Elle est l'une des rares sources d'acide γ -linoléique (GLA) (30 - 35 % des AGPI) et d'acide linoléique. Le taux de GLA peut être augmenté (de + 1,2 à + 1,6 %) si la culture se fait avec une alternance de lumière/obscurité.

Le GLA est un acide gras essentiel oméga 6 présent dans l'onagre, la bourrache, le pépin de cassis, le chanvre et la spiruline. Il est nécessaire à la synthèse des leucotriènes et des prostaglandines (Otleş S, et Pire R.,2001) .

I.5.3. Les glucides

En effet, les glucides agissent comme source d'énergie et contribuent au bon fonctionnement du cerveau et des muscles. Les polysaccharides de la spiruline représentent environ 15 à 25 % de la matière sèche et constituent une source d'énergie rapide qui ne sollicite pas le pancréas et ne cause pas d'importantes pertes d'insuline (**A. S. Babadzhanov, et al 2004**).

Les glucides simples (fructose, glucose et saccharose) en petites quantités, comme la glycérine, le mannitol et le sorbitol. À ce faible pourcentage, la spiruline est un aliment peu calorique (**Patel S, et Goyal A., 2013**).

I.5.4. Acides nucléiques (ADN et ARN)

On rapporte des valeurs de 4,2 à 6 % d'acides nucléiques totaux dans la matière sèche chez *Spirulina platensis* (**AFAA.,1982**) (**Ross E., Dominy W.,1990**).

I.5.5. Pigments

La spiruline contient deux principaux pigments :

- **Chlorophylle** : Le pigment responsable de sa couleur verte, la chlorophylle, ne représente qu'environ 1% de la masse sèche. Si les plantes utilisent ça pour à des fins photosynthétiques, il permet au corps humain d'obtenir le magnésium organique nécessaire au maintien de l'équilibre acido-basique. Bien que sa structure moléculaire structure est similaire soit similaire à celle de l'hémoglobine, la molécule principale est le magnésium plutôt que le fer.

De plus, la chlorophylle travaille avec un cofacteur appelé porphyrine (également présent dans la spiruline) pour décomposer les métaux lourds comme le mercure, le plomb, arsenic ou le nickel et les éliminer du corps. La chlorophylle augmente le péristaltisme le mouvement et soulage la constipation dans le processus. Il normalise également la sécrétion d'acide digestif et de la pepsine qui provoque l'indigestion. L'importance d'un séchage à basse température séchage est due au fait que la chlorophylle est détruite à haute température.

- **La phycocyanine** : responsable de la couleur bleue, selon les sources, représente entre 12,6% et 20% du poids sec (**Patel S, et Goyal A.,2013**).

Cette protéine, qui ne se trouve que dans la spiruline, contient un noyau renfermant un fer et un ion magnésium et est donc considérée comme le précurseur de l'hémoglobine (un noyau avec un ion fer). Et de la chlorophylle (noyau avec un ion magnésium), à la charnière entre le monde végétal et animal (**Melle Louvel Soizic.,2019**).

- **Les caroténoïdes** : non-azotés, dont la couleur peut aller du jaune au rouge, dont la majorité sont des précurseurs de la vitamine A (le β -carotène représente 80% des pigments caroténoïdes retrouvés dans la spiruline) (**tableau 1**). L'ensemble de ces pigments agit contre les radicaux libres dans l'organisme (**Morgan Proy, 2019**)

Tableau 01 : Composition qualitative et quantitative possible en pigments de la spiruline
(Vidalo J-L., 2015)

Pigments	Quantité pour 10g
β -carotènes	18 mg
Phycocyanine	1650 mg
Chlorophylle	120 mg

I.5.6. Les enzymes

La spiruline contient une quantité intéressante de SOD (Super Oxyde Dismutase) (1.000 à 4.000 UI/g), une puissante enzyme anti-oxydante, à la base du système endogène de la lutte contre le stress oxydatif. Grâce à la spiruline sans cellulose la biodisponibilité de la SOD est grandement améliorée (**Melle Louvel Soizic, 2019**)

I.5.7. Vitamines

- Vitamines hydrosolubles

Ces vitamines hydrosolubles sont facilement éliminées du corps par les reins, et le corps humain n'en a que peu ou pas de réserve. Du fait qu'ils doivent être apportés via l'alimentation de façon régulière, il n'y a théoriquement aucun risque de surdosage.

La spiruline est un bon fournisseur de vitamine B (B1, B2, B3, B5, B9 et B12)

- Vitamines liposolubles

Pour eux, ils sont solubles dans les lipides. Il y a un risque de surdosage sur ces vitamines, ce qui pourrait avoir des effets secondaires indésirables. Une réserve peut se former au niveau du foie et des tissus adipeux du corps humain. Représenté par les vitamines A, D, E et K (**Morgan Proy, 2019**) .

I.5.8. Minéraux

Tous les minéraux essentiels sont présents dans la spiruline et représentent environ 7% de son poids sec. L'accumulation de minéraux est directement influencée par des

facteurs culturels, tels que le pH, la salinité, la température, etc. Mais plus surtout, il y aura des minéraux dans l'environnement culturel (**tableau 2**) (**Morgan Proy.,2019**).

Tableau 02 : Composition qualitative et quantitative possible en minéraux de la spiruline et apport par rapport aux AJR (**Vidal J-L.,2015**) .

Minéraux et Oligo-éléments	Quantité pour 10g	Pourcentage des AJR
Fer	18 mg	128,6%
Calcium	120 mg	15%
Phosphore	80 mg	11,4%
Zinc	3 mg	30%
Magnésium	40 mg	10, 7%
Sodium	9 mg	/
Potassium	140 mg	7%
Cuivre	0,12 mg	12%
Manganèse	0,5 mg	25%
Sélénium	0,3 mg	545%

I.6. Principales applications de la spiruline

I.6.1. En alimentation humaine

Grâce à son excellent profil nutritionnel, la spiruline présente plusieurs bienfaits.

- En freinant la malnutrition, les humanistes et les médecins l'utilisent sous forme de poudre et mélangée à des céréales et de l'eau pour aider les enfants souffrant de malnutrition sévère. Il s'est avéré plus efficace que les médicaments pour traiter les effets des maladies induites par la famine telles que le marasme et kwashiorkor (**Fox.,1999**).
- Pour les sportifs, la consommation facilite l'effort et permet une meilleure récupération.
- La spiruline est considérée comme une bonne source de vitamines B9 et B12 et de fer, ce qui la rend adaptée aux femmes enceintes car elle donne accès à tous les nutriments essentiels. Augmente l'oxygénation musculaire et limite les spasmes utérins Grâce à la phycocyanine, ces femmes sont capables de se préparer à l'accouchement et récupérer après avoir surmonté la fatigue de l'allaitement (**Evoli conseil.,2014**) .

- De par sa composition, la Spiruline convient très bien non seulement aux bébés en âge de consommer des protéines, mais aussi aux enfants et aux adolescents. L'apport en éléments essentiels de haute qualité et les propriétés d'assimilation élevées la rendent idéale pour le développement de l'organisme. Trois à cinq grammes par jour suffisent pour prévenir les carences et éliminer les toxines liées aux fast-foods dont raffolent les ados. Il a également un effet positif sur la qualité de la peau **(Vidal.,2015)**.
- Dans le cadre d'une analyse nutritionnelle, la spiruline est utilisée comme complément protéique bénéfique pour la santé. En tant que coupe-faim, elle réduit l'appétit et optimise l'apport énergétique **(Tremblin et Moreau.,2017)**.

I.6.2. En alimentation animale

Semblable à l'homme, la spiruline renforce les défenses naturelles des animaux. Elle maintient le système immunitaire, lui permettant de lutter contre certaines maladies, et joue un rôle majeur dans la lutte contre le vieillissement et la fatigue.

Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont des animaux chez lesquels la spiruline est couramment utilisée. Chez les chevaux, la consommation est très courante pendant la croissance, la compétition ou la récupération. Sachez également que les bons éleveurs de poulets n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. Il s'agit d'une pratique experte qui permet de produire des œufs de bien meilleure qualité **(Casal.,2019)**.

I.6.3. En cosmétique

Des analyses quantitatives et qualitatives des éléments qui composent la Spiruline ont été formelles (acides gras essentiels, etc.) qui profitent à ceux qui les consomment dans leur assiette et à certains produits cosmétiques. Des traitements ont été créés dans des laboratoires qui ont été introduits dans des crèmes, des shampoings ou des sérums **(Banks.,2007)**.

Grâce à ses propriétés antioxydants qui empêchent la formation de radicaux libres, la Spiruline améliore la souplesse et l'élasticité de la peau, ralentit le vieillissement et donne aux ongles et aux cheveux brillance et résistance grâce à sa concentration en nutriments et oligo-éléments **(Banks.,2007)**.

Considérée comme un « aliment de beauté » extraordinaire, la spiruline est aujourd'hui utilisée dans la fabrication de produits de soins de spa et de thalassothérapie (masques visage, enveloppements corporels) comme soin régénérant et tonique pour les cheveux et les ongles,

comme antidote, c'est-à-dire marin. Dans les soins anti-âge, en packs et enveloppements marins, en soin revitalisant pour le corps, ou en masque reminéralisant pour le visage (**Casal.,2019**).

I.6.4. En thérapeutique

En raison de l'extraordinaire valeur nutritionnelle de la Spiruline, elle a plusieurs usages thérapeutiques dont les plus importants sont :

- Traitement de la dénutrition (malnutrition protéino-énergétique, anémie ferriprive, carence vitaminique).
- Améliorer l'immunité (comment lutter contre les maladies opportunistes).
- Traitement de certaines maladies de la peau.
- C'est aussi un partenaire efficace pour soulager les douleurs rhumatismales et l'arthrose, lutter contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension artérielle et les allergies. Il protège le cœur et favorise la régénération des cellules cérébrales (**Evoli Conseil .,2014**).

Toutes ces utilisations nutritionnelles et bienfaits thérapeutiques de la spiruline permettent aujourd'hui à la spiruline d'être commercialisée et consommée comme complément protéique ou « nutraceutique ».

I.6.5. En agroalimentaire

Il est utilisé comme colorant naturel (la phycocyanine est l'un des rares pigments bleus naturels) dans les chewing-gums, les sorbets, les bonbons, les produits laitiers et les boissons gazeuses. On la retrouve également dans de nombreux produits à base d'algues mélangées à du sel, des tagliatelles, etc. Le pain à la spiruline existe depuis longtemps en Suisse et au Japon (**Boudaoud.,2016**).

I.6.6. Applications médicales de la spiruline

En raison de ses bienfaits pour la santé, la spiruline est consommée comme complément alimentaire dans les pays développés et plus récemment dans d'autres régions, notamment en Afrique. Les bienfaits de la spiruline pour la santé peuvent être trouvés ici : (**J. Falquet et J. P. Hurni.,1986**) (**C. Girardin-Andréani.,2005**).

- Antioxydant lié à la phycocyanine ;
- Renforcer le système immunitaire avec des polysaccharides ;
- Activité antivirale :

- Activité anti-tumorale associée à la phycocyanine ; abaisse le taux de cholestérol grâce aux acides gras polyinsaturés oméga-3 et oméga-6.
- Améliorer les compétences sportives.
- Contient du fer, de la vitamine B12 et du bêta-carotène pour favoriser la récupération.
- Combattre l'asthénie grâce à l'apport d'oligo-éléments et de vitamines.
- Activité anticoagulante associée au spirulane calcique (Sp-Ca) et au spirulane sodique (Sp-Na). Cependant, la spiruline a une mise en garde. En effet, il existe très peu de données scientifiques épidémiologiques et cliniques sur la consommation de spiruline.

I.7. La spiruline dans les pathologies lourdes

De par sa composition naturelle, la spiruline semble avoir un effet stimulant sur le système immunitaire, lui permettant de mieux résister aux agressions extérieures, notamment virales. Il peut également avoir un effet positif sur la gestion de certains troubles digestifs en stimulant la digestion et en protégeant la flore intestinale. Ensuite, en agissant sur certains paramètres comme le cholestérol et les membranes cellulaires, il aura un effet préventif sur les maladies cardiovasculaires. Grâce à son activité hypoglycémiante, il est utile dans la prévention et la prise en charge concomitante du diabète de type 1 et de type 2. Largement reconnue comme antioxydant, la spiruline pourrait également être impliquée dans la prévention des troubles du système nerveux central comme la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer.

Les micronutriments tels que *Spirulina platensis* peuvent ralentir la progression réduisent fréquemment l'infection par le VIH en stimulant la réponse immunitaire **(Melle Louvel Soizic., 2019)**.

Les essais sont également prometteurs dans le traitement des maladies allergiques en manipulant les niveaux d'immunoglobuline E **(Isabelle Laurent.,2019)**.

I.8. Toxicologie et nutrivigilance

Selon la FDA, la spiruline est dans la catégorie GRAS : *Generally Reconized As Safe* , car des études à long terme chez l'animal n'ont montré ni toxicité ni effets secondaires graves, mais une parfaite sécurité d'utilisation . La seule préoccupation est la forte capacité de liaison des métaux lourds dans l'environnement, d'où la recherche d'un risque en cas de consommation excessive ou au long cours.

Deux possibilités de toxicité de la spiruline sont : la toxicité congénitale ou la toxicité externe due à une contamination lors de la culture, de la récolte ou de la transformation (**Audrey MANET.,2015**).

De manière générale, lors de l'achat de spiruline, il faut toujours faire attention à sa composition et à son mode de fabrication (**Morgan Proy.,2019**).



Chapitre II :
Activités biologiques de la
spiruline



En plus de sa valeur nutritive élevée, la spiruline présente de nombreuses activités biologiques telles que l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anti-cancéreuse, anti-microbienne, anti-diabétique et obésité et anti-toxicité **(Shao et al., 2019)**

II.1. Activité anti-oxydante

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, le superoxyde dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière.

De nombreuses études in vitro et in vivo ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif **(Goulambasse .,2018)**. Elle permet le ralentissement du vieillissement et de la destruction des cellules **(Barth et Leo., 2019)**.

II.2. Activité antimicrobienne

Plusieurs études préliminaires in vitro d'extraits de Spiruline contre plusieurs bactéries pathogènes (*E. coli* et *Staphylococcus aureus*) ont permis d'observer une activité antibactérienne efficace **(Qureshi et Hunter., 1995)**. Ce résultat prouve que les cyanobactéries possèdent un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes, et donc le développement d'antibiotiques à base de plantes sûrs et prometteurs (agents antibactériens) avec moins d'effets secondaires pour remplacer les médicaments de synthèse et montre des perspectives de développement **(Al-Ghanayem.,2017)**.

La spiruline apporte des probiotiques :

L'activité régulatrice microbienne de la spiruline peut empêcher la flore intestinale. Les effets antibactériens de la spiruline peuvent protéger l'hôte de l'infection. Les changements dans la composition du microbiote sont généralement associés à plusieurs facteurs **(Melle Louvel Soizic.,2019)**.

Les modifications de la composition du microbiote sont généralement associées à plusieurs maladies, notamment les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et les maladies métaboliques et immunologiques. La consommation de spiruline peut favoriser le rétablissement de l'équilibre microbien correct en favorisant la croissance des espèces probiotiques Très peu d'études parlent de l'amélioration du microbiote intestinal par la spiruline **(Oxid med longev., 2017)**.

II.3. Activité anticancéreuse

En quoi la spiruline peut-elle apporter un effet anticancéreux ? (Préventif ou curatif) :

Par sa composition :

- les polysaccharides qui renforcent l'activité enzymatique des endonucléases, des enzymes qui réparent les dommages à l'ADN conduisant au cancer ;

- Le spirulane calcique (Ca-SP), un polysaccharide, à une dose de 100 mg IV a réduit les métastases pulmonaires dans les cellules tumorales pulmonaires établies. En effet, Ca-SP inhibe l'invasion tumorale en réduisant le nombre de colonies et empêche l'adhésion tumorale en déduisant des mécanismes d'adhésion et de migration (**Ismail MFet al.,2009**).

- avec des antioxydants. Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que le bêta-carotène, un des antioxydants implantés 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**) .

II.4. Activité antivirale

La richesse de la spiruline en β -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (**Andreani., 2012**). Il a été 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 (**Youbare., 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., 2012**).

II.5. Activité anti-inflammatoire

La richesse de la spiruline en protéine et en acide gras notamment les oméga 3 et 6 qui ne peuvent pas synthétisés par l'organisme lui donne un intérêt biologique particulier puisque cet acide gras est un précurseur des prostaglandines, molécules ayant une activité anti-inflammatoire et immunostimulante au sein de l'organisme (**Charpy et al., 2008**).

La phycocyanine est un pigment assez rare dans la nature. Elle se trouve avec un pourcentage d'environ à 12,6% et 20% du poids sec (**Patel S, et Goyal A.,2013**). Ce composant inhibe la formation de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- α (Tumor Necrosis Factors α), supprimant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX-2), médiateur principal de l'inflammation, et diminuant la production de prostaglandine E, La phycocyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs (**Goulambasse.,2018**).

II.6. Activités anti-toxicité

Récemment, **Ebaid et al., (2017)** ont étudié l'effet protecteur de *S.platensis* contre la toxicité hépatique produite par le traitement avec des nanoparticules de cuivre. Ils ont confirmé le rôle bénéfique de *S.platensis* en tant que marqueurs antioxydants qui amélioraient les paramètres fonctionnels hépatiques (**Rajesh et Kala 2015 ; Shao et al., 2019**).



Chapitre III :
Culture de la spiruline



III.1. Culture de la spiruline

La spiruline est une micro-algue qui se développe dans des milieux très spécifiques, milieux y compris le chaud, notamment les eaux chaudes et salées de certains lacs, notamment les lacs volcaniques. Les eaux de la région du Kanem sont riches en carbonate et en sel (natron), ce qui les rend fortement alcalines et favorables au développement de cette micro-algue.

Les exigences pour la culture sont très simples : une eau entre 25 et 38 degrés Celsius, peu profonde et non stagnante, du soleil et de la lumière, idéalement un climat tropical, des minéraux et des oligo-éléments.

L'avantage de la culture de la Spiruline est qu'elle est écologique et rapide. Un développement qui se compte en heures, avec peu d'effet saisonnier sur la production, et un milieu assez facile à reproduire en bassin.

Actuellement, environ 5000 tonnes de Spiruline sont produites annuellement. Le plus grand producteur est la Chine, qui utilise la spiruline comme aliment et représente 50 % de la production mondiale. Les États-Unis suivent en deuxième position. Ces deux pays produisent de la Spiruline depuis les années 1980 et fournissent 80% de la Spiruline consommée en France (Lana Daude.,2021).

III.1.1. Milieu de culture

C'est une solution de sels minéraux et d'eau. Ce liquide doit apporter tous les nutriments chimiques nécessaires à la croissance de la Spiruline. Ce sont des milieux fortement minéralisés riches en carbonate de sodium (Na_2CO_3) ou en bicarbonate de sodium (NaHCO_3) et en azote lié et autres sources minérales (C. Zarrouk.,1966). Ce milieu n'est pas propice à la croissance d'autres plantes ou d'autres formes de vie, compte tenu de son pH très alcalin. Aujourd'hui de nombreux pays mettent en place des fermes de Spiruline grâce à la synthèse des médias. Le plus célèbre et le plus courant (support standard) c'est le milieu de Zarrouk FIG (C. Zarrouk.,1966).

De plus, le milieu est testé même si la biomasse rapportée n'est pas aussi élevée que le milieu de Zarrouk. Ces milieux sont constitués de sels minéraux alternatifs, nutriments essentiels à des concentrations spécifiques modifiées (B. Raoof et al., 2006), (Jourdan .,2016). Certains auteurs ont montré la possibilité d'ajouter des sels minéraux spécifiques à partir d'eaux usées traitées ou d'urine humaine (élimination des éléments nocifs pour l'homme) (C. Yang et al., 2008). (À Bellahcen et al.,2013).

Tableau 03 : Milieu de culture de référence, le milieu Zarrouk (Fox R.D.,1999)

COMPOSITION DU MILIEU DE BASE	
<i>(en g/l de solution aqueuse)</i>	
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO ₄	0,5
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1
NaCl	1
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,2
CaCl ₂	0,04
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	0,01
EDTA (acide éthylène diamino	0,08
tétracétique)	
1ml de A5 + 1ml de B6 pour chaque litre de milieu de base	
COMPOSITION DE LA SOLUTION A5	
<i>(en g/l)</i>	
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ , 4 H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	0,22
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,08
MoO ₃	0,02
COMPOSITION DE LA SOLUTION B6	
<i>(en mg/l)</i>	
NH ₄ VO ₃	22,9
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ , 24 H ₂ O	96
NiSO ₄ , 7 H ₂ O	47,8
Na ₂ WO ₄ , 2 H ₂ O	17,9
Ti ₂ (SO ₄) ₃	40
Co(NO ₃) ₂ , 6 H ₂ O	44

Le milieu de culture de référence est le milieu Zarrouk. Ce milieu est fabriqué à partir d'eau distillée, il n'est cependant pas très économique.

III.1.1.1. L'eau

La spiruline vit à la fois dans l'eau salée et alcaline. L'eau utilisée pour le bouillon doit de préférence être buvable (mais pas fortement parfumé).

Le plus important est l'élimination des algues exotiques. Eau de pluie, Bonne ou bonne, qualité généralement acceptable. Eau dure Produit des boues minérales (plus ou moins abondantes selon la teneur en calcium magnésium et fer), s'enracine rapidement et ne pose pas de problèmes particuliers (JOURDEN.,1999).

III.1.1.2. Les éléments nutritifs

La culture de la spiruline doit contenir tous les éléments suivants (Jordan.,1999).

- Bicarbonate de sodium (NaHCO_3) : est une source d'alcalinité, provoquée par du bicarbonate de soude ou de l'eau de cendre
- Phosphore (P) : indispensable à la photosynthèse, apportée par Ortho phosphate soluble.
- Azote (N) : est un composant important des acides aminés qui fournissent Principalement de l'azote atmosphérique, mais aussi de l'urée.
- Carbone (C) : Ce qui est apporté est le composant principal de la Spiruline Principalement du dioxyde de carbone, mais aussi du sucre.
- Les métaux : essentiellement le fer, le magnésium... (**Jordan.,1999**).

III.1.2. Conditions de culture

III.1.2.1. La Température

Les premiers repères de température sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C:

La température idéale pour augmenter le taux de croissance des Spiruline (**FALQUET ., 1999**) Au-dessus de 43°C, il devient mortel, en dessous duquel le taux de reproduction chute à 20°C. La culture doit être entre ces deux températures parce que la croissance s'est effectivement arrêtée lorsque la température n'est pas appropriée (**JOURDEN.,1999**). La spiruline peut survivre dans un milieu de culture Froid (jusqu'à -5°C). Les changements brusques de température sont mauvais pour la spiruline (**Antenna Technologies., 2012**).

III.1.2.2. PH

Le pH doit être compris entre 8 et 11. Le pH idéal est à 9.5(**C. Zarrouk.,1966**). (**Technologie d'antenne., 2012**).

III.1.2.3. L'agitation

Il est indispensable de secouer la culture de Spiruline au moins 2 à 4 fois par jour. Le transfert moyen permet et facilite une bonne répartition de la lumière échange gazeux (séparation de l'oxygène et absorption du dioxyde de carbone). Cependant, si vous le secouez trop vigoureusement, cela abîmera la spiruline à l'origine de l'apparition à partir de mousse. Quelques pompes centrifuges et cascade. Les éclaboussures d'eau sont particulièrement nocives (**Antenna Technologies.,2012**). L'agitation est en soufflant de l'air avec une pompe électrique, ou un compresseur d'aquarium, ou par roue hydraulique à nouveau.

1.2.4. L'éclairage

Les cyanobactéries se distinguent des bactéries par la présence de chlorophylle A et de pigments accessoires hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine (PE)) et bleue (phycocyanine (PC)). La spiruline platensis contient également une autre phycobiline, l'allophycocyanine (APC). Les cyanobactéries possèdent aussi des caroténoïdes notamment le β -carotène. Leur coloration (vert, bleu, rouge,) ; sont associés à la présence simultanée de ces différents pigments suivant leur proportion. Ils font la photosynthèse de l'oxygène, donc ils peuvent le faire convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique en liant le dioxyde de carbone (CO_2) et libère de l'oxygène (O_2). En raison de la présence de ces pigments, La spiruline absorbe la lumière sur une large bande spectrale (**P.H. Raveronandro et al., 2008**) .

III.1.2.3.1. Influence de la lumière sur la croissance de la spiruline

La lumière est un facteur important pour la croissance des micro algues. Une limitation de la lumière ou un excès de lumière peut donc affecter la lumière métabolisme et croissance cellulaire (**Z Dubinsky., 2013**).

III.1.3. Les systèmes de culture

Il existe deux types de systèmes de production :

Les systèmes dits ouverts comme les bassins et les systèmes fermés (bioréacteurs et photo bioréacteurs.

III.1.3.1. Les bassins artificiels ouverts

Il s'agit d'une méthode simple et couramment utilisée dans les travaux artisanaux sur de grandes surfaces. L'un des principaux avantages de ce système est l'utilisation de la lumière naturelle comme source lumineuse. Cela permet aux fabricants d'économiser des coûts supplémentaires. Cependant, ce système de production de micro algues présente de nombreux inconvénients.

- Absence de contrôle des conditions de culture (lumière, température, etc.).
- Contamination possible par d'autres organismes (bactéries, champignons, levures, etc.).
- Exposition à la pluie, à la poussière, etc. (sauf si la piscine est couverte).

Les systèmes ouverts sont les plus répandus aujourd'hui. Certaines proposent également des améliorations (automatisation, gestion nutritionnelle, ajustement des conditions de culture, etc.) (**figure 3**).

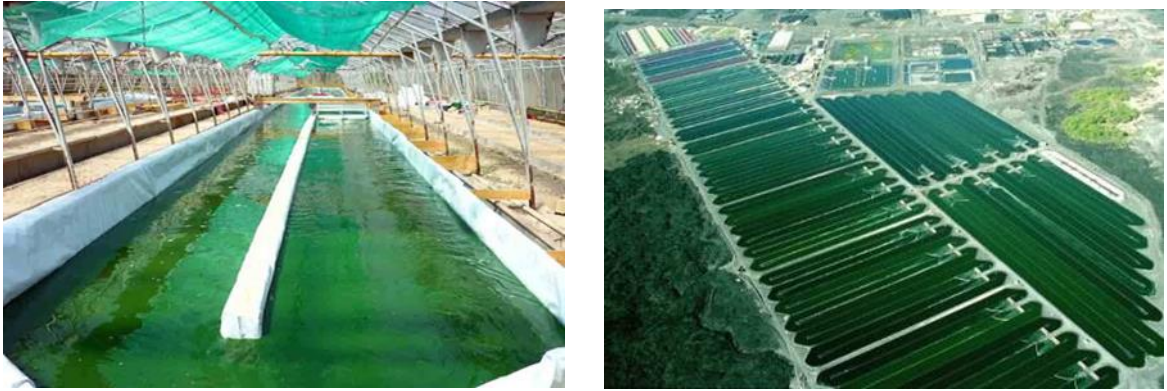


Figure 03 : Exemples de bassins de spiruline. A droite des bassins améliorés à Hawaï (N'goran Urbain Florent Niangoran.,2017)

III.1.3.2. Les cultures en milieu contrôlé : le photo bioréacteur

Un bioréacteur, aussi appelé fermenteur ou propageur, est un appareil qui cultive des microorganismes (levures, bactéries, microbes, micro algues) pour produire de la biomasse. Dans cette salle, nous vérifions le substrat pour la culture.

Les photo bioréacteurs diffèrent des bioréacteurs conventionnels en ce qu'ils ont fondamentalement un autre élément ajouté lumière. Les photo bioréacteurs se présentent sous différentes formes, les plus couramment utilisées étant planes et tubulaires. Une forme tubulaire est préférée pour la culture de la Spiruline. En effet, il facilite le déplacement des micro algues le long des bords, évitant ainsi la destruction des micro algues.



Figure 04 : Image d'un photo bioréacteur (N'goran Urbain Florent Niangoran .,2017).

III.1.4. Les modes de cultures

Quel que soit le type de culture, la reproduction des cyanobactéries est asexuée et se fait par division. Les individus sont divisés en deux individus génétiquement et morphologiquement

presque identiques. Le temps nécessaire pour que le nombre de cellules viables double est appelé temps de doublement ou temps de génération (td).

III.1.4.1. Le mode batch

Cette méthode de culture est facile à mettre en œuvre et permet d'étudier le taux de croissance des micro algues. En mode culture batch, tous les éléments nécessaires à la culture (lumière, nutriments) sont apportés en une seule fois au démarrage de la culture. Au fil du temps, la population de micro algues augmente jusqu'à ce qu'un ou plusieurs facteurs de culture (généralement des nutriments) soient épuisés. La croissance des micro algues en mode discontinu est représentée par une courbe bien définie (**figure 5**).

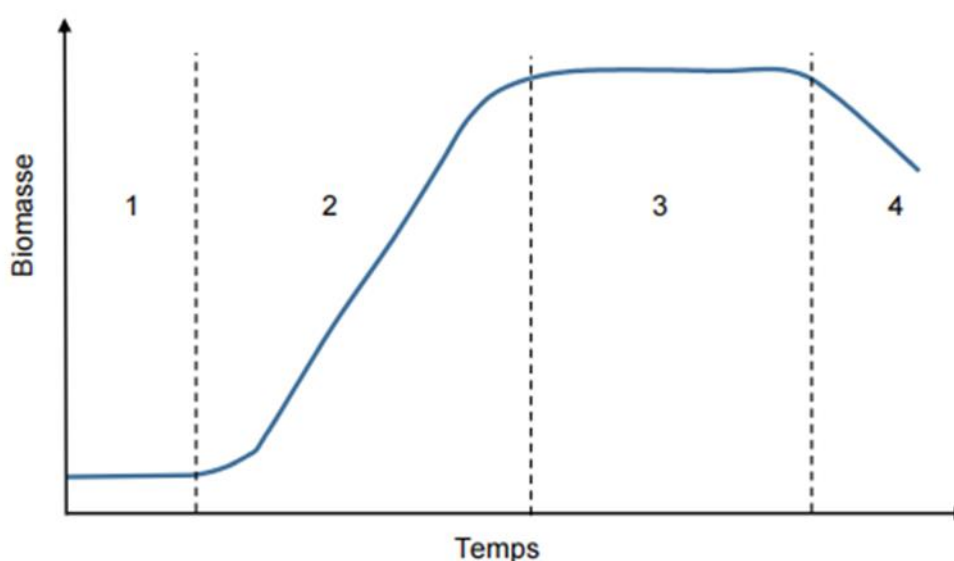


Figure 05 : Courbe de croissance des micro algues en mode batch (A. Richmond .,2004)

Cette courbe comprend quatre phases :

A : La phase de latence (1) : C'est l'étape d'adaptation des microorganismes au milieu. Cette étape varie selon le type de microorganisme et le type de milieu, mais est généralement courte. Peu ou pas de croissance .

B : La phase de croissance exponentielle (2) : A ce stade, le taux de croissance est maximum et constant.

C : La phase stationnaire (3) : La population microbienne restera constante (la quantité de cellules en croissance est égale à la quantité de cellules qui meurent). Cela est dû au manque de nutriments ou à la présence de toxines dues à la régénération cellulaire.

D : La phase de décroissance (4) : C'est le stade de la mort, où les cellules meurent de façon exponentielle (perte irréversible de fertilité). Dans ces conditions de culture défavorables, certaines espèces entrent en dormance cellulaire et reprennent leur croissance dans un nouvel environnement adapté (**A. Richmond.,2004**) .

III.1.4.2. Le mode continu ou mode flow

Dans ce mode, l'objectif est de maintenir le volume moyen constant pendant l'incubation. Par conséquent, le milieu de culture est alimenté en continu une fois que la concentration cellulaire souhaitée est atteinte. Théoriquement, cette méthode pourrait maintenir la culture à un taux de croissance constant dans des phases exponentielles. Permet l'étude de la croissance microbienne en présence de faibles concentrations de nutriments. Ceci est comparable aux conditions trouvées dans l'environnement naturel.

III.1.4.3. Le mode fed-batch ou semi continu

Dans les cultures fed-batch, le milieu est ajouté lorsque la croissance est en phase stationnaire. Le volume dans le réservoir augmente alors avec le temps. Le débit est ajusté pour que la concentration en substrat dans le réservoir soit constante et que les effets de dilution n'inhibent pas la production de biomasse. La culture se développe jusqu'à ce qu'elle atteigne à nouveau la phase stationnaire. Après cela, il est possible de prendre un certain montant. Fed-Batch permet en effet un gain de temps, une productivité accrue et la possibilité de changer de milieu en cours de culture (**S. Carmaux.,2008**).

III.1.5. Récolte

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

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

La spiruline a été récoltée après 7 jours, l'eau du récipient a été pompée, filtrée deux fois (filtre 60 µm) pour obtenir une pâte de spiruline humide, lavée à l'eau douce et filtrée sur maille très fine (environ 40 microns, filtre gradué ou avec filtre vibrant), là le pistolet extruder transforme la biomasse en fils de type spaghetti. Celles-ci sont séchées à basse température et pulvérisées pour obtenir de la poudre de Spiruline (**Audrey Manet.,2016**).

III.1.6. Séchage

Le séchage au soleil est trop volatil pour être utilisé. Les producteurs de spiruline utilisent le séchage par ventilation à basse température pour empêcher la spiruline de se dénaturer et conserver ses propriétés d'origine. Le séchage par atomisation utilisé dans la grande industrie réduit la teneur en vitamines, en particulier la vitamine E (**Audrey Manet.,2016**).

III.1.7. Tests avant la mise sur le marché

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

Des normes de qualité et de sécurité sont appliquées à la vente de la spiruline, garantissant l'origine, l'adéquation, les techniques de récolte, de séchage et de conditionnement.

Leur sécurité est vérifiée dans la partie 3 et comprend des tests microbiologiques, la composition chimique, le contrôle de la teneur en métaux lourds, la recherche de la présence de pesticides et de substances étrangères (**Audrey Manet.,2016**).

III.1.8. Formes et modalités d'achat

La spiruline peut être mise en vente sous diverses formes :

- En paillettes, C'est la forme la plus représentative de ce qu'est réellement la spiruline, et généralement la moins chère car non transformée, mais elle a l'inconvénient d'avoir une odeur assez forte.
- En poudre, Ce n'est rien de plus que des flocons, ils sont écrasés.
- En comprimés, Il a pour effet de masquer l'odeur et le goût uniques de la Spiruline.
- En gélules ; La gélule peut être d'origine végétale ou d'origine animale. L'utilisation d'une gélule permet de supprimer l'éventuel goût désagréable mais peut malheureusement conduire à un coût plus important que sous forme de poudre ou de paillette.

- En liquide, Il s'agit en fait d'un extrait de Spiruline... c'est donc la forme la plus transformée à surveiller, car tous les nutriments ne sont pas forcément présents en quantités intéressantes (par exemple l'extraction à l'eau ne contient pas de lipides ni de graisses). Les vitamines solubles ne peuvent pas être récupérées.)

Parce que la spiruline est un complément alimentaire et non un médicament, sa vente est autorisée partout : pharmacies, petits magasins diététiques, internet, petits marchés locaux, supermarchés, etc. Par exemple, tout n'est pas très clair concernant les propriétés nutritionnelles attribuées à ces produits.

Reprenons le cas de l'extrait de spiruline, le **Spirulysat**® : le site vante des qualités nutritionnelles qui à première vue ont l'air correctes, mais la quantité de référence n'est mentionnée nulle part... Ainsi, la quantité de protéines indiquée est supérieure à 0,2 g, mais la quantité de l'extrait ne contient que 110 mg de spiruline, il est donc difficile de croire qu'il s'agit d'une seule ampoule d'extrait de spiruline (**Morgan Proy.,2019**).

III.1.9. Conseils d'utilisation

III.1.9.1. Posologie

La spiruline doit être prise progressivement :

La première semaine de prise est limitée à 1 g par jour, permettant au système digestif de s'habituer à cette nouvelle substance et rappelant qu'elle est très riche en nutriments, elle peut être augmentée progressivement selon la dose cible.

Cela dépend de la personne :

Les personnes sédentaires qui souhaitent stimuler leur système immunitaire n'ont pas besoin de consommer autant de spiruline que les sportifs de haut niveau en compétition.

Tous les laboratoires de suppléments qui vendent de la spiruline recommandent de ne pas dépasser 10 g par jour. Les laboratoires pour adultes fournissent un tableau de dosage intéressant (**tableau 4**).

Tableau 04 : Exemples de posologies utilisables pour la spiruline (**Morgan Proy.,2019**).

Dose journalière que l'on pourrait néanmoins recommander pour un adulte :	
En bonne santé	1,5g - 2,5g
Quadragénaires en manque tonus	2,5 - 3g
Qui souhaite traiter une fatigue passagère	3g
Qui souhaite lutter contre l'épuisement, l'asthénie	3,5g
Qui souhaite faire face à une maladie et/ou pendant une convalescence	4g
Qui est sportif	4g - 10g

III.1.9.2. Effets secondaires

Les effets secondaires causés par la spiruline surviennent généralement lorsque vous surdosez l'une des premières doses sans laisser à votre corps le temps de s'habituer à prendre de la spiruline.

Maux de ventre, diarrhée, constipation, nausées et maux de tête sont un florilège d'inconforts rapportés par certaines personnes.

Il y a eu des cas d'éruptions cutanées légères, et la littérature suggère que cela est dû à la détoxification de l'organisme, mais il faut faire preuve de prudence concernant d'éventuelles réactions allergiques. Des cas documentés de développement d'urticaire et d'asthme après avoir ingéré seulement 2,5 g de comprimés de spiruline (**Morgan Proy.,2019**).

III.1.9.3. Avis et expériences vis-à-vis de la spiruline

Le co-fondateur d'un site internet qui a pour but de vendre des produits naturels contenant de la spiruline a accepté de contribuer à ces travaux. Indiquer leur expérience personnelle et leur satisfaction avec le produit.

Tous les témoignages rapportent des effets positifs tels que :

- Nouvelles énergies et sons
- Santé musculaire
- Soulagement de l'acné hormonale et des crampes menstruelles
- Des cheveux et des ongles plus sains
- Amélioration du transport intestinal

- Élimination de la carence en fer
- Amélioration du sommeil
- Améliorer les performances sexuelles
- Un système immunitaire plus efficace
- Réduire les douleurs articulaires

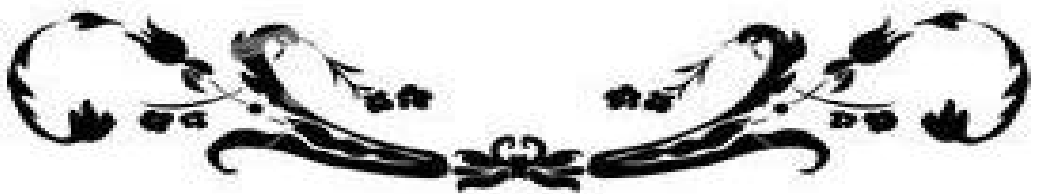
III.1.9.4. Conseils associés

Comme pour toute prescription, en plus du produit, des conseils doivent être donnés pour permettre son utilisation avec l'intelligence appropriée.

- Divisez votre dose quotidienne en deux prises, de préférence le matin et le midi. Eviter dans tous les cas, la spiruline doit être prise le soir en raison de son effet stimulant.
- Utilisez de l'eau tiède claire pour diluer la poudre.
- Mangez des fruits riches en vitamine C (comme le kiwi) en cas d'ingestion améliore l'absorption du fer non humique présent dans la spiruline.
- Ne pas utiliser dans des préparations chaudes ou cuire car risque de perte toutes les valeurs nutritionnelles ciblées.
- Peu importe la couleur du pof : pigment riche en spiruline les selles peuvent être de couleur vert foncé/noir.
- Tenir à l'écart des sources de chaleur, de lumière et d'humidité (**Morgan Proy.,2019**).

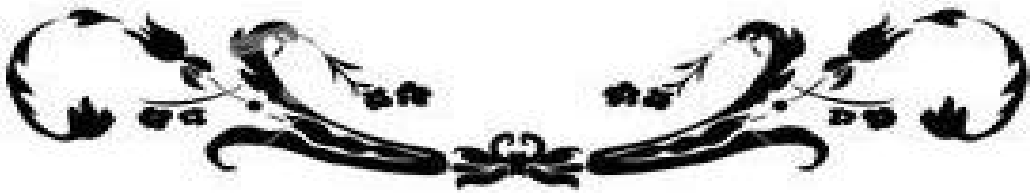


Étude expérimentale





Chapitre I :
Matériel et méthodes



Notre travail a été réalisé dans les laboratoires du Centre Universitaire de Mila département des sciences de la nature et de la vie, et le laboratoire d'analyses médicales Dr Mirouh. A à Ferdjioua ; 2023.

Cette étude concerne la culture d'une souche de la Spiruline (*Arthrospira platensis*) après l'évaluation de deux activités biologiques (anticoagulante et antibactérienne) de l'extrait hydro alcoolique de cette espèce.

L'étude concerne également la préparation d'une gamme de produits cosmétiques à base de cette algue et un autre produit alimentaire destiné pour les sportifs.

I.1. Matériel et méthodes

I.1.1. Matériel

A/Matériel biologique :

Souche de Spiruline :

Les échantillons de la souche mère d'*Arthrospira platensis* sont obtenues à partir de Biofarm Al-Kiram de la région de Biskra.

B/Matériel non biologique : (annexe 01)

I.1.2. Méthodes

I.1.2.1. Culture de la Spiruline

I.1.2.1.1. Préparation des milieux de cultures

Le milieu de culture est le milieu nécessaire et convenable pour nourrir l'*Arthrospira platensis*.

Dans cette étude la spiruline a été cultivé en utilisant deux milieux de cultures : Le premier milieu de culture utilisé est le milieu Zarrouk, ce milieu contient tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de *Spirulina Platensis* à des concentrations bien supérieures aux besoins de l'algue (**Zarrou.,1966**). Le deuxième, est le NPK : 20-20-20 +T. E engrais de qualité complexe

A/ Milieu de culture " Zarrouk " :

Le milieu standard de Zarrouk (**tableau 5**), très souvent cité et servant de référence, mais pas très économique, il est préparé à partir de l'eau distillée et il contient, en g/litre les constituants suivants :

Tableau 05 : Compositions de milieu de culture (Zarrouk)

Eléments	Quantité (g/l)
Na HCO ₃	16.8
K ₂ HPO ₄	0.5
Na NO ₃	2.5
K ₂ SO ₄	1
Fe SO ₄ , 7H ₂ O	0.01
Na Cl	1
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	0.2
Ca Cl ₂	0.04
EDTA	0.08

On a commencé premièrement par la mesure à l'aide d'une balance les réactifs chimiques nécessaires pour la préparation du milieu Zarrouk dans 1L de l'eau distillée puis on a mélangé tous avec un agitateur afin de les dissoudre.

**Figure 06 : Pesage des réactifs chimiques pour le milieu Zarrouk (Photo personnelle., 2023).**

Après cela, nous ajoutons 1 ml de la solution A5 qui se compose de plusieurs éléments (tableau 6) et on les mélange de la même manière précédente.

Tableau 06 : Composition de la solution A5, en g/l.

Eléments	Quantité (g/l)
$\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$	0.079
H_3BO_3	2.86
$\text{MnCl}_2, 4\text{H}_2\text{O}$	1.81
$\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	0.222
MoO_3	0.015

Le milieu préparé doit être conservé dans des flacons et conserver pendant une semaine après stérilisation par autoclavage.

**Figure 07 :** les éléments chimiques de milieu Zarrouk (Photo personnelle., 2023).

B/ Milieu de culture "NPK":

C'est un milieu qui est principalement composé de l'azote, de phosphate et de potassium.



Figure 08 : les éléments chimiques de milieu NPK 20-20-20+T.E (Photo personnelle., 2023).

Nous mélangeons 10 g de NPK avec 1 L d'eau puis on mélange avec un agitateur afin de les dissoudre.

1.2.1.2. Ensemencement

La culture de la spiruline se fait en deux milieux de culture (**milieu Zarrouk et le NPK**).

- Après la préparation des milieux on ajout progressivement 1 litre de la souche de spiruline à chaque 4 litre de milieu de culture. Dans les mêmes conditions d'éclairage. L'éclairement ou l'énergie lumineuse en jour pour les cultures est fournie par une lampe d'aquarium. Avec une minuterie qui fonctionne de 6 :00 heures du matin jusqu'à 20 :00 heures du soir. Une agitation était nécessaire pour permettre aux cellules l'accès aux nutriments et à la lumière, elle a été assurée par une pompe d'air aquarium que nous avons actionné 30 min d'agitation et 15 min de repos pendant la journée et 15 min d'agitation et 2 h de repos pendant la nuit. Le PH a été mesuré à l'aide d'un PH-mètre ; Il varie entre 9 et 10.

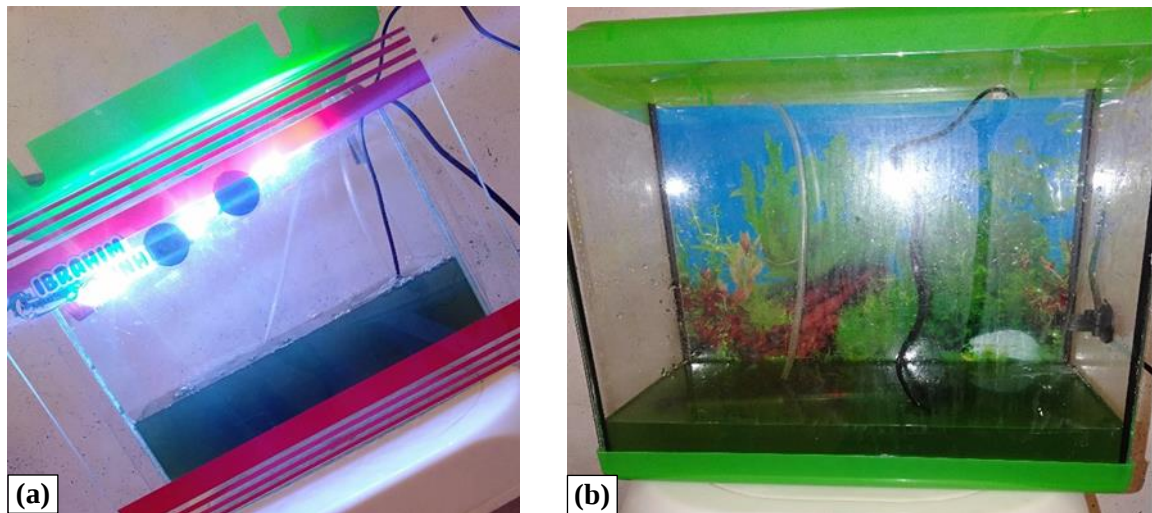


Figure 09 : culture de la spiruline dans les deux milieux (**Photo personnelle.,2023**). (a) : le milieu NPK. (b) : le milieu Zarrouk)

1.2.2. Extraction et dosage des polyphénols totaux

1.2.2. 1. Extraction des composés phénoliques par macération hydro-méthanolique

Une quantité de 50g de la poudre (spiruline) est macérée dans une 500 ml d'une solution de méthanol/eau (70 : 30, v/v) sous agitation mécanique à température ambiante pendant 3 jours, après filtration, Le filtrat obtenu est soumis ensuite à une évaporation par rota-vapeur. Permettant ainsi d'obtenir un extrait, qui est considéré comme étant l'extrait brut (résidu sec), qui est ensuite stocké dans des boîtes de Pétries en verre fermées hermétiquement à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation (**figure 10**).

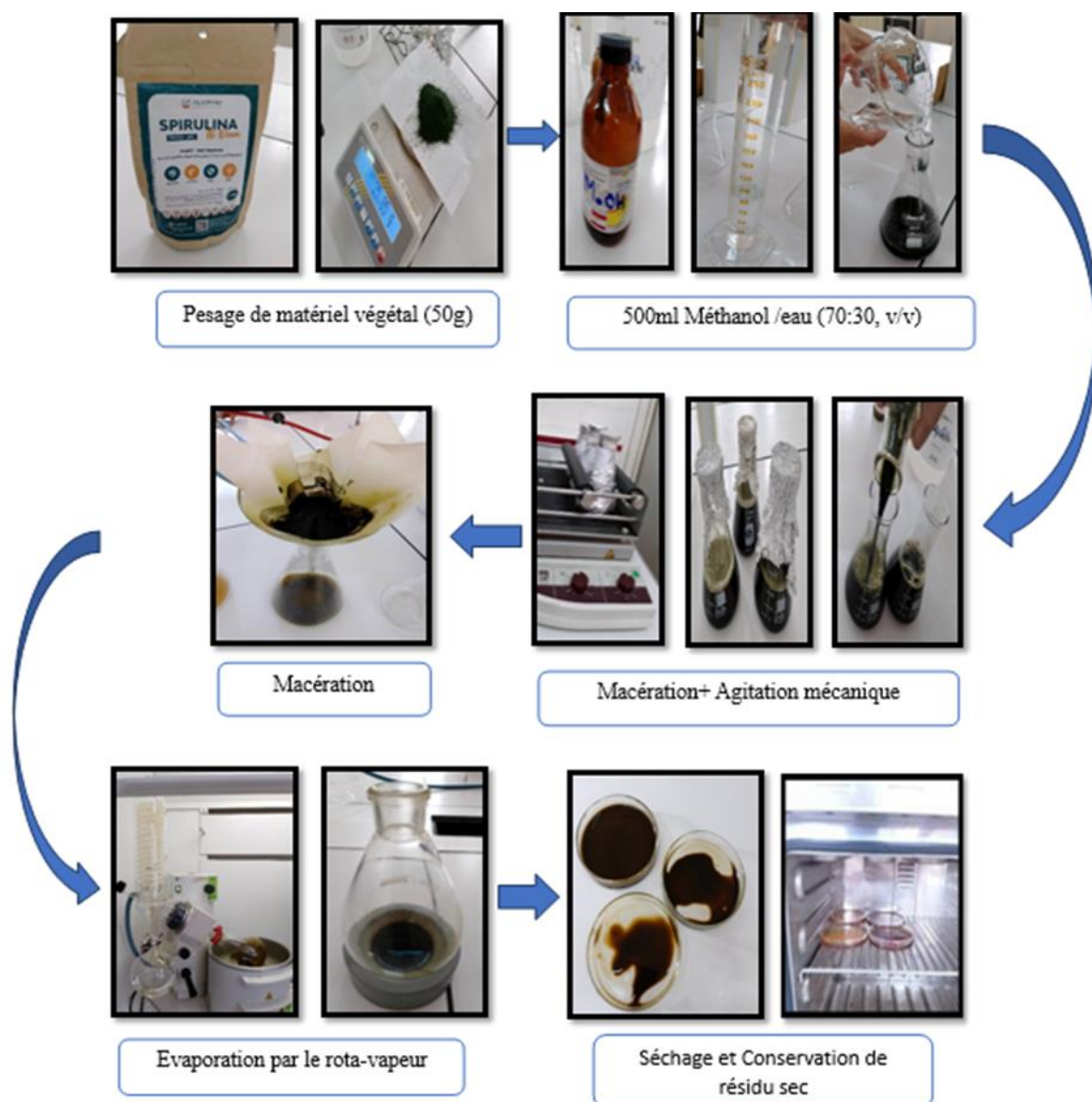


Figure 10 : Représentation schématique des étapes réalisées pour la préparation de l'extrait hydrométhanolique. (Photo personnelle.,2023).

- **Détermination des rendements des composés phénoliques**

Le rendement des extraits bruts est calculé par le rapport entre le poids de l'extrait sec et celui de la plante en poudre. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R \% = (Me / Mv) \times 100$$

R%: Rendement en %.

Me: Masse d'extrait après évaporation du solvant.

Mv: Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

I.1.2.1.2. Dosage des polyphénols totaux par colorimétrie (méthode de FolinCiocalteu).

- **Principe**

En milieu alcalin, les phénols réduisent le mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolybdique en oxydes bleus de tungstène et de molybdène. Cette propriété est utilisée pour le dosage des composés phénoliques du vin en faisant appel au réactif de FOLIN DENIS ou de FOLIN CIOCALTEU (Singleton et ROSSI.,1965) ont confirmé, la supériorité du second réactif (coloration plus forte, plus stable et absence de troubles). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présentes dans les extraits végétaux (Boizotet Charpentier., 2006).

- **Protocole de dosage**

La détermination des concentrations des polyphénols totaux de l'extrait brut est effectuée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu (Cheok C et al.,2013). Un volume de 200 µL d'extrait végétal à différentes concentrations est introduit dans un tube à essai, 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu (dilué au 1/10ème dans le méthanol) y est additionné. Après incubation de 4 min à température ambiante, 800 µL d'une solution aqueuse de carbonate de sodium (7,5 %) sont ajoutés. La solution finale est mélangée et conservée à l'obscurité pendant 2 heures. L'absorbance est mesurée (765 nm contre un blanc).

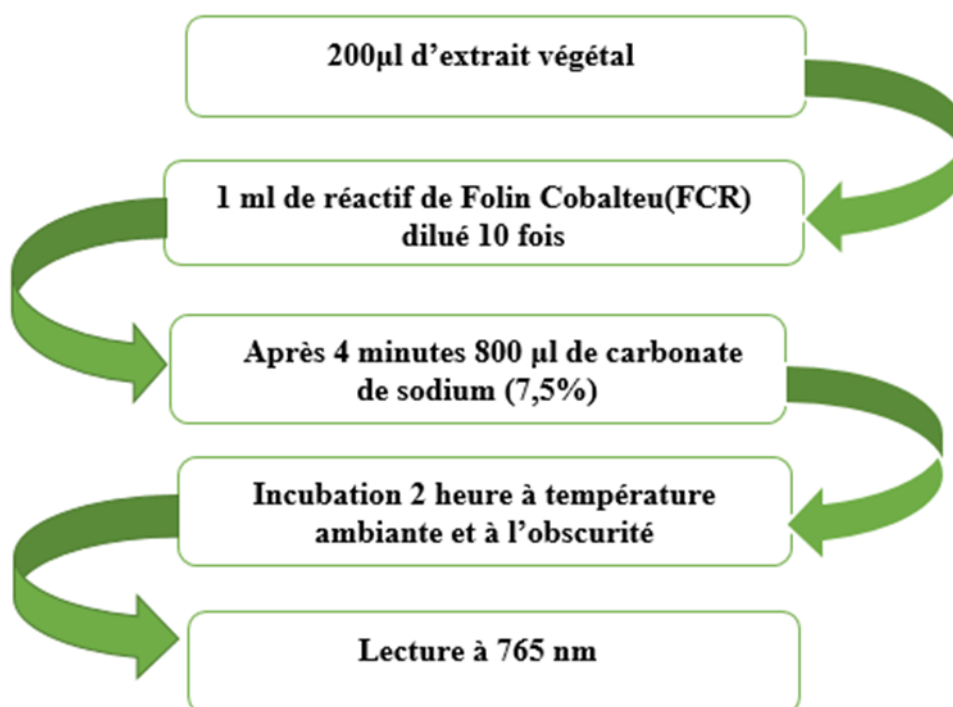


Figure 11 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Cheok C et al.,2013).

A l'aide d'un spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage ($y = ax$) est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard, concentration massique 0.75g/1, des solutions filles sont ainsi préparées à différentes concentrations.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g du poids sec de l'extrait.

I.1.2.2. Evaluation des activités biologiques

I.1.2.2.1. Activité anticoagulante

Cette activité a été évaluée in vitro vis-à-vis des deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) sur un pool des plasmas normaux déplaquettés et à l'aide de deux tests chronométrique globaux, le test de temps de céphalin-kaolin (TCK) et le test de temps de Quick (TQ).

- **Préparation du sérum déplaquetté**

Un plasma pauvre en plaquettes est préparé à partir du sang de 10 volontaires sains non traités, âgés entre 24 et 26 ans dont les TCK les TQ sont normaux et comparables (**Athukorala et al., 2007**).

Le sang de chaque volontaire est prélevé par ponction veineuse dans un tube en plastique contenant une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3.2% à raison de 1 :9 (citrate : sang). Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 min à 3000 rpm pour obtenir le plasma pauvre en plaquettes. Le mélange de ces plasmas est conservé à -10 °C jusqu'à son utilisation (**Athukorala et al., 2007**).

A- Activité anticoagulante vis-à-vis la voie endogène (TCK)

- **Principe**

L'évaluation de l'activité anticoagulante des extraits vis-à-vis la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le temps de céphaline -kaolin ou le temps de thromboplastine partielle activé, un test qui permet d'explorer l'activité des facteurs II, V, VIII, IX, X, XI et XII (**annexe 2**) de la voie endogène et la voie commune de la coagulation (**Rizzo et al., 2008**).

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37 °C d'un plasma pauvre en plaquettes (PPP) et citrate mis en présence de phospholipides (la céphaline) substitut du facteur

3 plaquettaire (F3P) d'un activateur du système contact (Prékalikriène, Kininogène de haut poids moléculaire et le facteur XII) qui est généralement le Kaolin et de calcium comme un facteur déclenchant (Caquet., 2004).

- **Mode opératoire**

L'activité des extraits et de certains de leurs composés est établie sur 100 μ l de ce plasma qui est mélangé avec différents volumes de ces solutions (10, 20, 30 μ l) préparées à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 100 μ l de céphaline-kaolin est additionnée au mélange qui est réincubé durant exactement 3 min sous agitation à 37°C. Le temps de coagulation est alors déterminé à l'aide d'un coagulomètre par ajout de 100 μ l de chlorure de calcium (0,025M) préchauffé (Wang et al., 2010).

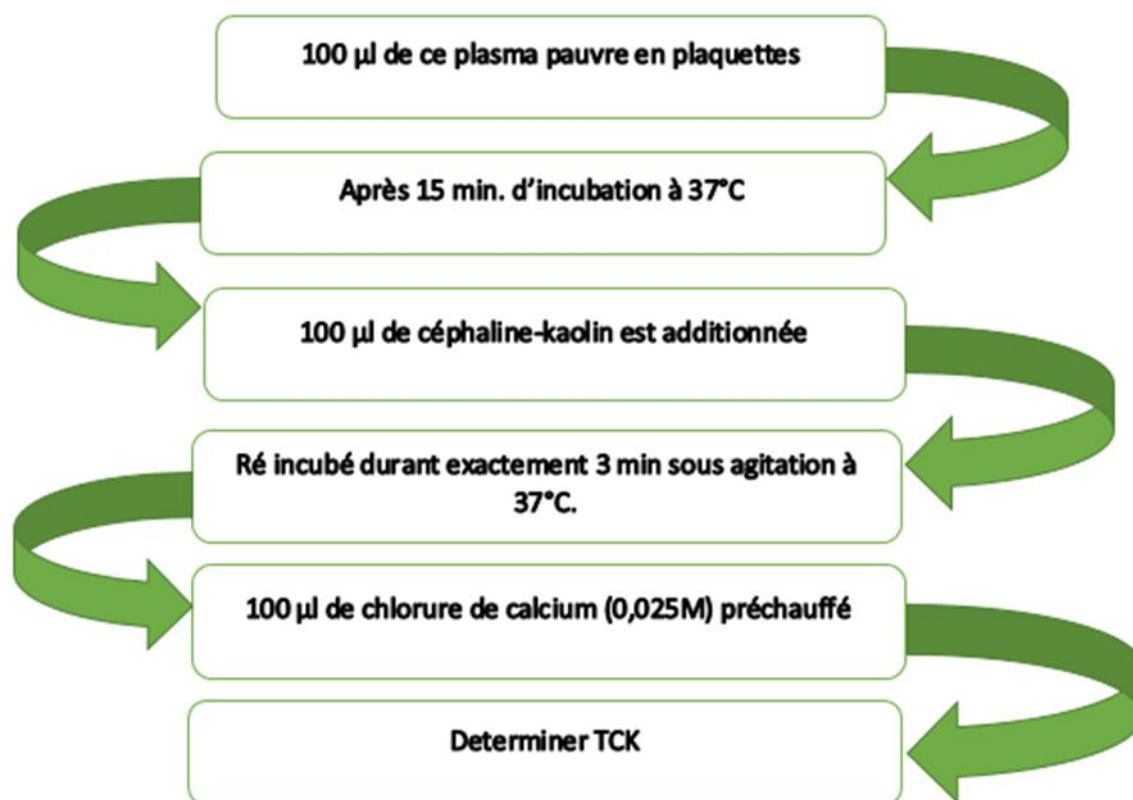


Figure 12 : étapes de la voie endogène (TCK).

B- Activité anticoagulante vis-à-vis la voie exogène (TQ)

- **Principe**

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick ou le taux de prothrombine (TP) est le test qui explore les facteurs II, V, VII et X de

la voie extrinsèque et la voie commune de la coagulation (**Rizzo et al., 2008**). La technique originale a été décrite par Quick en 1935.

Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à 37°C d'un plasma pauvre en plaquettes en présence d'un mélange de facteurs tissulaires et des phospholipides (la thromboplastine) et de calcium. Les facteurs de la voie exogène donc sont activés et le temps qui s'écoule jusqu'à la formation du caillot est mesuré (**Athukorala et al., 2007**).

- **Mode opératoire**

L'effet des extraits sur la voie exogène de la coagulation a été évalué selon le protocole décrit par Wang et ses collaborateurs (2010), 100 µl de plasma pauvre en plaquettes préchauffé durant 2 min à 37°C est mélangé avec différents volumes des extraits et de certains de leurs composés (10, 20, 30 µl), préparés à une concentration donnée. Après 15 min. d'incubation à 37°C, 200µl de thromboplastine calcique (préchauffée au moins 15 minutes à 37°C) est additionné au mélange et le temps de la coagulation est alors enregistré à l'aide d'un coagulomètre .

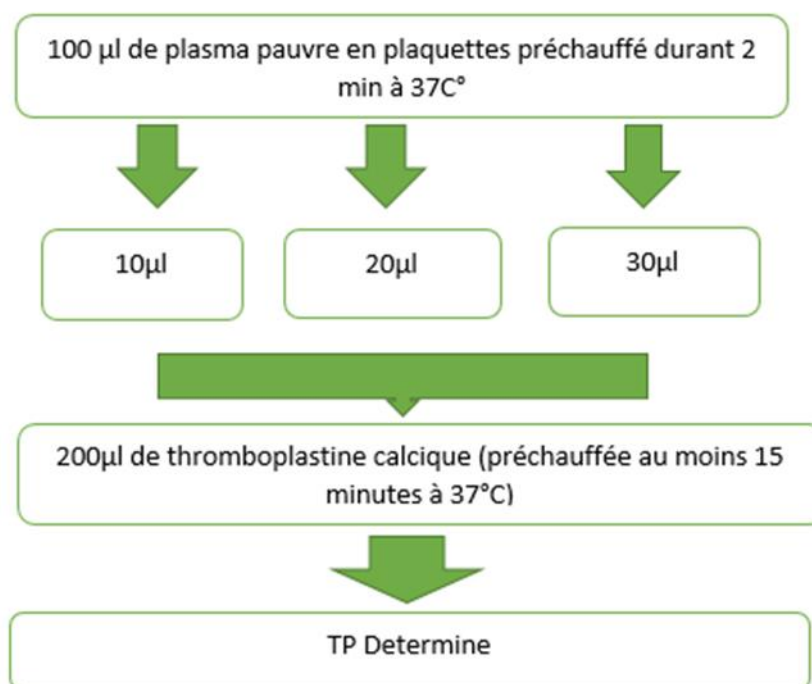


Figure 13 : Etapes de la voie exogène (TQ).

I.1.2.2.2. Etude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne *in vitro* vis-à-vis des différentes souches bactériennes a été réalisée par la méthode de diffusion de disque où les disques sont imbibés de 10 µl de l'extrait (Sokmen et al., 2004).

- **Matériels du test de l'activité antibactérienne**

A. Souches bactériennes

Les souches bactériennes sur lesquelles nous avons testé l'activité d'extrait hydrométhanolique (**tableau 7**), sont de lots de l'ATCC (American Type Culture Collection), ont été choisies pour leur haute pathogénicité et leur multi résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37 °C pendant 24 heures par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH).

Tableau 07 : Liste des souches bactériennes étudiées.

Genre et espèce	N° ATCC	Gram	Famille
Pseudomona aeruginosa	27853	-	Pseudomonadacées
Escherichia coli	25922	-	Enterobacteriacées
Bacillus Subtilis	6633	+	Bacillaceae
Staphylococcus aureus	0827	+	Staphylococcaceae

B. Les antibiotiques

Les antibiotiques utilisés dans ce travail sont : Gentamicine (CN10) et Trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT25).

C. Milieux de culture

Selon les souches bactériennes, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants :

Mueller Hinton (MH) et l'eau physiologique.

- **Principe**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la spiruline, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose par technique de disque.

- **Méthode de diffusion sur disques**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale (**Pibiri.,2006**). L'aromatogramme se réfère à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques dans le milieu de culture solide, qui a étéensemencé avec l'inoculum. La méthode est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque. La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de cultureensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien.

Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée (**Manuel terrestre de l'OIE.,2008**). Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante (**Pibiri., 2006**).

Les disques devraient être distribués de sorte que les zones d'inhibition autour des disques ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. La méthode des disques est facile à mettre en œuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement onéreux (**Manuel terrestre de l'OIE., 2008**).

- **Protocole**

- **Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit :

Dissoudre 38 g la gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 120°C finalement conter le milieu dans les boîtes de Pétri.

- **Préparation des disques**

Des disques de papier Wattman N° 3 de 6 mm de diamètre, puis conservés dans des tubes en verre stériles.

- **Stérilisation du matériel**

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

- **Préparation d'extrait méthanolique**

L'extrait méthanolique de l'espèce étudiée a été dissous dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) (la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 100 mg dissous dans 9 ml de DMSO (vt =1+9 =10 ml).

- **Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24 h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester.

Décharger l'anse dans 2 ml d'eau physiologique, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son Opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une DO de 0,08 à 0.10 à 625 nm.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes pétri, un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube.

L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, d'en bas en stricts serrées.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extrait sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

De même les antibiogrammes réalisés avec des disques contenant des antibiotiques Gentamicine (CN 10) et Trimethoprim-sulfamethoxazole (Sxt 25) (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés pour la comparaison avec les résultats des extraits testés et les disques Wattman imprégnés de DMSO (Témoin négatif). Finalement, les boîtes de pétri sont incubées pendant 18 à 24h à 37°C.



Figure 14 : étapes de préparation de l'inoculum et méthode de diffusion des disque (photo personnelle.,2023).

- **Lecture**

Après l'incubation, l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance (Najjaa et al., 2007), La lecture des résultats se fait par la mesure de la zone d'inhibition (à l'aide d'une règle (mm) à l'intérieur de la boîte (tableau 8).

Tableau 08 : évaluation de l'activité antibactérienne selon diamètre d'inhibition (Choi et al., 2020).

Observation	Signe	Diamètre
Non sensible	(-)	>8 mm
Sensible	(+)	8 à 14 mm
Très sensible	(++)	15 à 20 mm
Extrêmement sensible	(+++)	< de 20 mm



Chapitre II :
Résultats et discussion



II.1. Résultats de culture

II.1.1. Observation microscopique

Au laboratoire l'observation microscopique au cours de la période de l'expérience nous a permis de surveiller la morphologie et les caractérisations de la spiruline (changement des colures, la taille et la forme...) (**figure 15**).

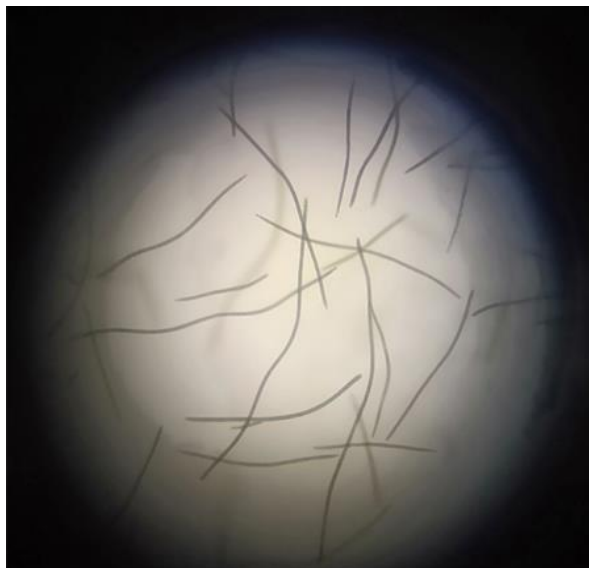


Figure 15 : Observation microscopique de la spiruline (photo personnelle,2023)

D'après la photo de microscope optique nous pouvons conclure que la forme de cette souche est droite

II.1.2. Couleur

Le tableau suivant (**Tableau 9**) montre les différentes possibilités qui peuvent se produire en observant la couleur du milieu (**Goulambasse.,2018**).

Tableau 9 : Couleurs du milieu de culture avec leur signification (**Goulambasse.,2018**).

Bleu-vert	Vert	Jaune	Jaune+écume	Jaune grisâtre	Incolore
Culture trop ombragée	Culture en bonne santé	Trop lumière forte : photolyse	Lyse+exo polysaccharides	Contamination bactérienne	Culture précipitée ou dévorée par des prédateurs

D'après ce tableau, une culture en bonne santé est celle de couleur verte. Lorsque la culture vire au jaune, elle est exposée à un fort ensoleillement. Lorsque que la lumière est trop forte et que la culture est de couleur jaune avec des écumes, il y a lyse (destruction des cellules).

Lorsqu'elle a une couleur jaune grisâtre ou incolore, le problème est lié à la présence d'autres microorganismes nuisibles à la spiruline (Goulambasse.,2018).

II.1.3. Récolte

Une récolte a pu être réalisée à la fin de la période d'expérimentation c'est à dire après 20 jours de culture. Le poids de la biomasse obtenue est de 2.00 g au milieu Zarrouk et de 1.05g au milieu NPK.

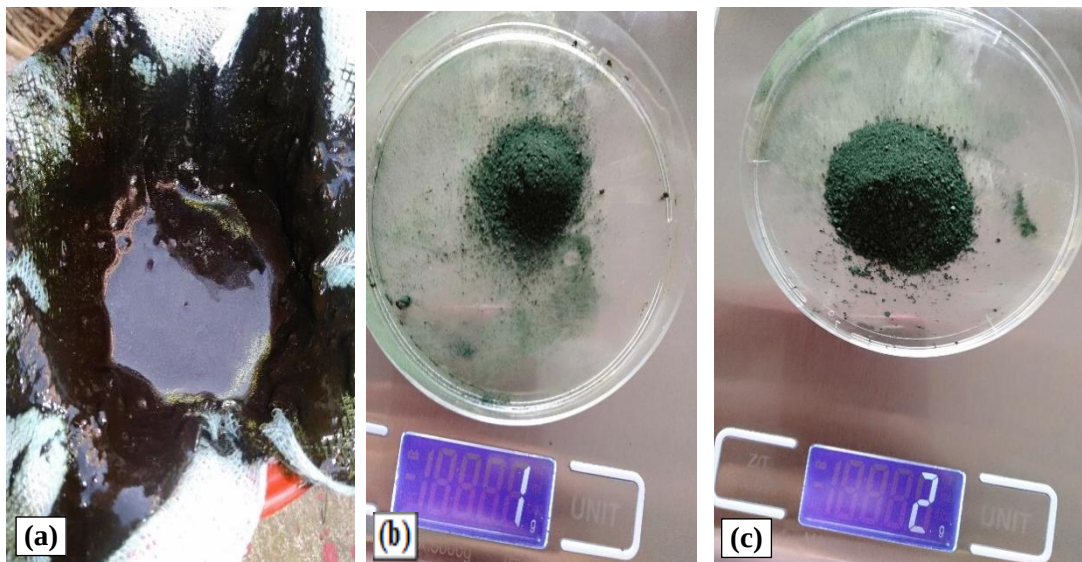


Figure 16 : la récolte de spiruline ((a)filtration (b) milieu NPK (c) milieu Zarrouk

II.2. Résultats de l'extraction et de dosage des polyphénols totaux

II.2.1. Rendement d'extraction

Les résultats du calcul du rendement massique et le pourcentage obtenu sont reportés dans le **tableau 10**

Selon l'équation On obtient :

$$R \% = (3.9 / 50) \times 100$$

$$R\% = 7.8 \%$$

Tableau 10 : Rendement d'extraction à partir de la souche Algérienne.

Le rendement	rendement massique	pourcentage obtenu
Résultat	0.078	7.8%

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis* obtenu dans cette étude est **7.8 %**.

- **Discussion**

Le rendement de l'extrait hydro-méthanolique de *Spirulina platensis* obtenu dans cette étude est moins qu'à celui obtenu par **Ali et Doumandji (2017)** qui est **9.88%** pour l'extrait méthanolique.

De façon général, Il est difficile de comparer les résultats avec ceux de la bibliographie, le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée. En effet, la méthode d'extraction affecte également le contenu total en phénols et en flavonoïdes et l'activité antibactérienne (**Lee et al., 2003**) .

II.2.2. Dosage des polyphénols totaux d'*Arthrospira platensis*

Le dosage des phénols totaux des extraits méthanoliques préparés à partir de résidus sec de spiruline a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique.

Au cours du dosage des polyphénols et après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu, une couleur bleue est apparue, ce qui confirme la présence des composés phénoliques dans l'extrait méthanolique.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**figure 17**). (**annexe 03**)

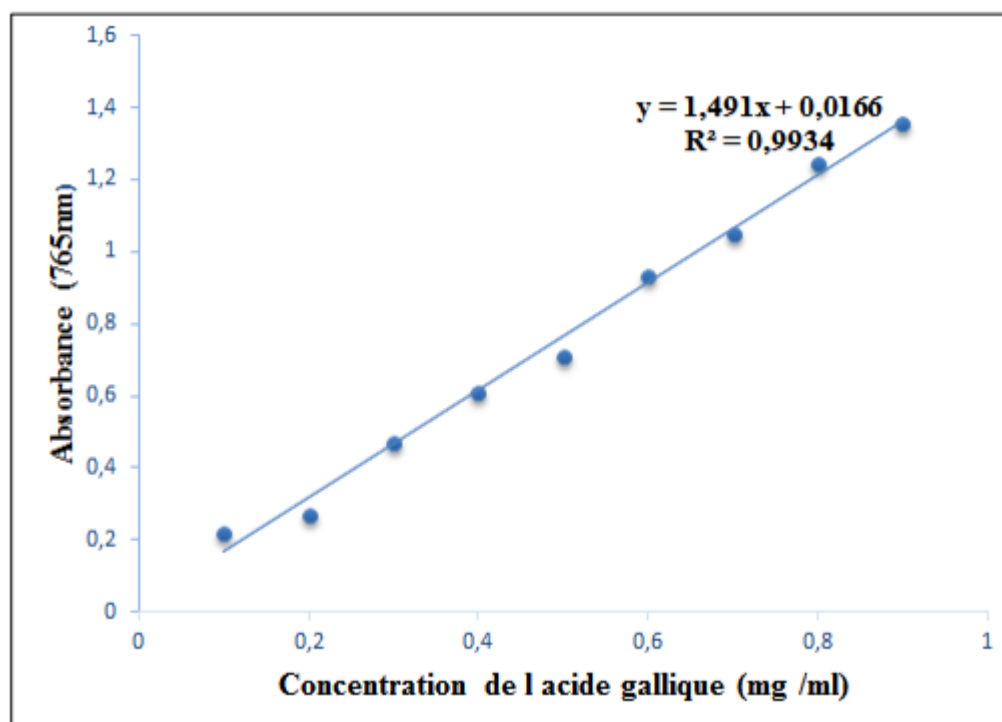


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Nos résultats montrent que l'extrait hydrométhanolique de spiruline contient une teneur importante des polyphénols avec une valeur moyenne de $(48,51 \pm 0.01)$. Calculée à partir de la droite de régression de l'acide gallique donc notre résultat est supérieur au résultat trouvé par **Boussahel et al (2013)** qui ont obtenu $(33,65 \pm 2,5 \text{ mg EAG/g d'extrait})$.

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

II.3. Détermination de l'Activité anticoagulante de la spiruline

A- La voie endogène (TCK)

D'après les résultats obtenus pour le TCK (**Figure 18**), il ressort que les polyphénols présents dans la spiruline ne sont pas capables de l'allonger significativement.

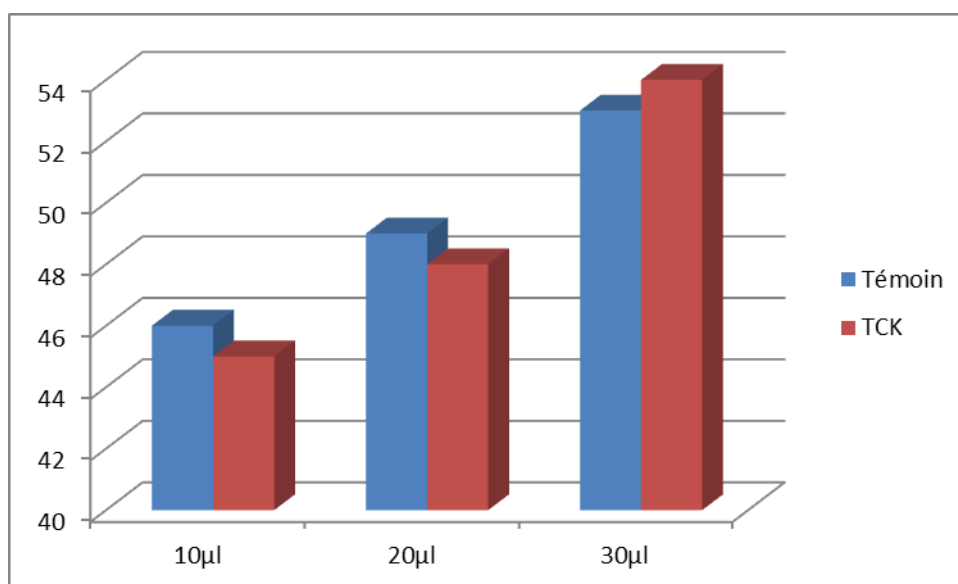


Figure 18 : Capacité anticoagulante de la spiruline vis-à-vis de la Voie endogène TCK.

On peut supposer que les facteurs de coagulation de la voie intrinsèque restent normaux en présence des polyphénols de spiruline. Conformément à cette observation, **Manallah, (2012)** montrent que le TCK soit normal lorsque les facteurs de coagulation de la voie intrinsèque soient normaux ; facteur du système contact (facteur XII et XI, Kininogène de haut poids moléculaire, Prékallikréine), complexe anti hémophilique (facteur IX, facteur VIII), complexe de la prothrombinase (facteur X, facteur V), prothrombine (facteur II) et fibrinogène (facteur I). (**annexe 3**)

En plus, on propose que les polyphénols n'ont par ailleurs aucune influence sur l'interaction entre le facteur XII et la surface électronégative de l'activateur kaolin. Cette interaction induit l'activation séquentielle des facteurs XI, IX, X et la thrombine (facteur II) **annexe 1**, et déclenche par conséquent la voie endogène de coagulation (**Manallah, 2012**).

B- Voie exogène (TQ)

L'activité anticoagulante des échantillons et de leurs constituants vis-à-vis la voie exogène de la coagulation a été déterminée en utilisant un test de coagulation appelé le temps de Quick ou le taux de prothrombine (TP) qui allongé par rapport à un témoin de TQ de (17.7s), et un témoin positif qui présente un temps d'allongement maximal (plus de 5min) n'existe pas une coagulation donc incoagulable.

D'après les résultats obtenus pour le TQ (**Figure 19**), il apparaît clairement que l'extrait méthanolique de la spiruline avec les trois concentrations (10ul, 20ul, 30ul) ne présente aucun

effet anticoagulant par rapport au TQ normale (17 ,7 s), et incapables de l'allonger significativement

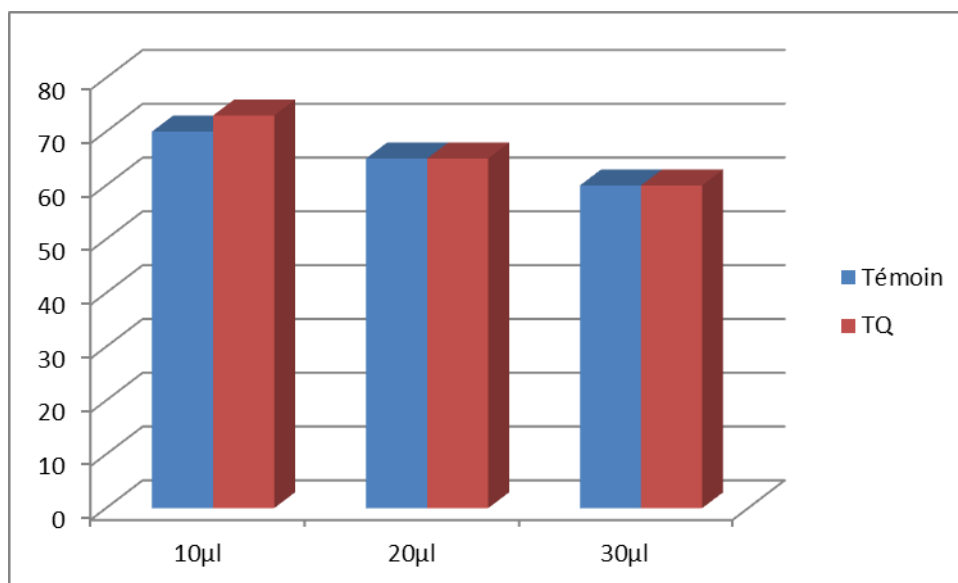


Figure 19 : Capacité anticoagulante de la spiruline vis-à-vis de la Voie exogène TQ.

Nous avons fait une étude sur l'extrait de spiruline pour voir s'il est dangereux pour l'usage alimentaire des malades de la coagulation sanguine ou non, et on a constaté que le résultat de l'extrait de spiruline est très proche du réactif négatif, nous pouvons donc dire qu'il est non anticoagulant, ainsi que non saignant, et donc idéal et sans danger pour la consommation.

Globalement, on peut déduire que le polyphénol de spiruline indic n'exercent aucun effet anti-anticoagulant sur la voie exogène et aucun effet anti-anticoagulant sur la voie endogène.

II.4. Détermination de l'Activité antibactérienne de la spiruline

II.4.1. Détermination de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de DMSO

Les résultats de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en disque de quatre souches testées sont représentés dans le **tableau 11** .

Tableau 11 : Diamètre des zones d'inhibition des deux antibiotiques (témoin positif) testés et de DMSO (témoin négatif)

Les Bactéries \ Les témoins	Témoin positif (Les antibiotiques)		Témoin négatif
	Gentamicine CN 10	Trimethoprim sulfamethoxazole SXT25	DMSO
Bacillus Subtilis	23	21	-
Escherichia .Coli	20	22	-
Pseudomonas aeruginosa	27	-	-
Staphylococcus aureus	26	39	-

(-) : Absence de zone d'inhibition

D'après les résultats obtenus dans le **tableau 11** et la **figure 20** nous soulignons une variabilité dans la réponse des souches étudiées (Bacillus Subtilis , E . coli , Pseudomonas aeruginosa ,Staphylococcus aureus), vis-à-vis des antibiotiques (T+) testé . Par contre aucune réponse n'a été présentée avec DMSO (T-).

Bacillus subtilis est une bactérie à Gram (+), elle est extrêmement sensible à l'antibiotique CN10 (diamètre de zone d'inhibition de 23 mm), alors qu'elle a montré une sensibilité vis-à-vis de Gentamicine (diamètre de zone d'inhibition de 21 mm).

La bactérie E. coli (Gram -) est sensible à CN10 avec un diamètre de zone d'inhibition de 20 mm, alors qu'elle est sensible à SXT25 avec un diamètre de 22 mm.

Pseudomonas aeruginosa (Gram -) est extrêmement sensible vis-à-vis de CN10 avec un diamètre de zone d'inhibition de 27 mm, alors qu'elle n'a pas montré une sensibilité à l'antibiotique SXT25 .

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram (+), elle est extrêmement sensible à l'antibiotique SXT25 (diamètre de zone d'inhibition de 39 mm), alors qu'elle a montré une sensibilité vis-à- vis de Gentamicine (diamètre de zone d'inhibition de 26 mm).

La sensibilité de la souche Pseudomonas aeruginosa aux CN10 testés a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition

de 27 mm suivi par *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 26 mm, et enfin *Bacillus Subtilis* et *E. coli* avec un diamètre de zone d'inhibition de 23,20mm .

D'autre part la sensibilité de souche *Staphylococcus aureus* à l'antibiotique SXT25 a montré un meilleur résultat par rapport aux autres bactéries étudiées avec un diamètre de zone d'inhibition de 30 mm suivi par *E. coli* *Bacillus Subtilis* avec un diamètre de zone d'inhibition de 22,21 mm, et enfin aucune réponse n'est présentée avec *Pseudomonas aeruginosa*.

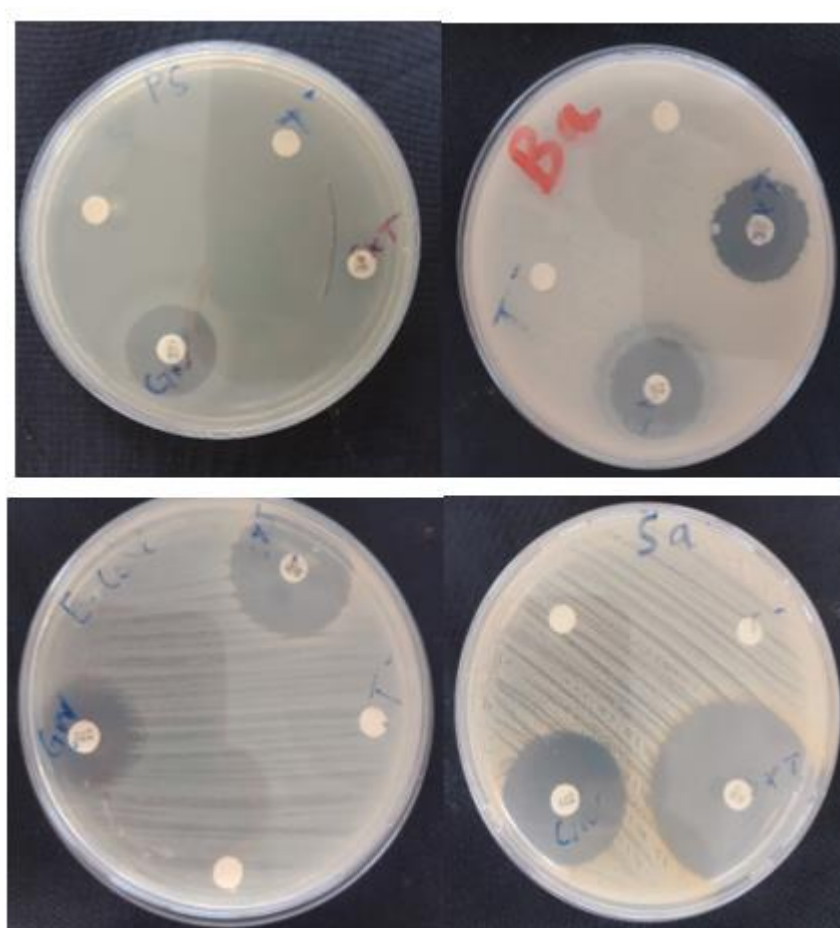


Figure 20 : Effet des antibiotiques et de DMSO sur les bactéries testées (photo personnelle , 2023)

II.4.2. Résultat de l'activité antibactérienne de l'espèce étudiée

Dans notre étude on trouve une zone d'inhibition donc l'extrait a un effet bactérien sur les souches étudiées.

Selon les résultats enregistrés (**tableau 12**), nous soulignons que l'extrait de notre espèce (*Arthrospira platensis*) présente un effet sur les bactéries étudiées.

Tableau 12 : diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne testés par l'extrait de spirulina platensis

Diamètre de zone d'inhibition (mm)		
Gram	Souche bactérienne	Extrait méthanolique
Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
	<i>Bacillus subtilus</i>	11
Négatif	<i>Escherichia coli</i>	7
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–

D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'effet antibactérien de *Spirulina platensis* est présent sur les trois souches étudiées (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilus*, *Escherichia coli*) , mais absent sur la souche (*Pseudomonas aeruginosa*)

Nos résultats de l'activité antibactérienne de la spiruline s'accordent avec les travaux de recherche déjà effectués. On cite parmi eux :

➤ **Bacteries Gram positif**

- **Staphylococcus aureus**

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait hydrométhanolique de spiruline qui est 21mm contre *Staphylococcus aureus* suivi par les résultats de **Usharani et al (2015)** (ont rapporté que l'extrait brut de méthanol de *Spirulina platensis* a montré la zone d'inhibition moyenne la plus élevée pour *Staphylococcus aureus* ($19 \pm 0,3$ mm) puis les résultats d' **El-Monem et al (2018)** (extrait méthanolique donne une zone d'inhibition d'environ 16 mm de diamètre) et finalement les résultats de **Rao et al (2010)**. (*S. aureus* 15. 20 mm)

- **Bacillus subtilis**

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de spirulina qui est 43mm

Finalement les résultats de **Rao et al (2010)** (B. subtilis 12. 63 mm)

➤ **Bactéries Gram négatif**

- **Escherichia coli**

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **El-Monem et al (2018)** avec l'extrait méthanolique est de 10 mm.

La zone minimale d'inhibition obtenue par **Chakraborty et al., (2015)** (E.Coli , 6 mm)

- **Pseudomonas aeruginosa**

La plus grande zone d'inhibition obtenue par **Ali et Doumandji (2017)** avec l'extrait méthanolique de spirulina qui est 31mm suivi par les résultats d'**Usharani et al (2015)** avec l'extrait méthanolique qui est 18 mm. La zone minimale d'inhibition obtenue par **El-Monem et al (2018)** est de 9 mm. Mais aucune zone d'inhibition n'est obtenue par **(Rao et al., 2010)**

Pour *Arthrospira platensis* . On peut montrer à partir de notre étude la présence de l'effet antibactérien , sur certaines souches bactériennes de gram positif et négatif .cette présence est due à la présences des métabolites secondaires réputé pour l'effet antibactérien **(Havsteen 2002 ; Sosa et Tonn., 2006) (Annexe 4)**

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

L'extrait hydrométhanolique de *Spirulina platensis* à des différentes concentrations a montré différentes plages de zones d'inhibition.

D'une manière générale lorsque la concentration de l'extrait est augmentée, une activité inhibitrice accrue est observée. **(Bougoffa S et Hamidi .A .,2020)**



*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Les spirulines (*Arthrospira platensis*), sont des cyanobactéries qui ont une composition chimique riche en différentes constituantes, parmi ces derniers le composant majeur est les protéines, les lipides, les glucides, ainsi que les vitamines et les minéraux.....etc.

Cette composition donne à la spiruline, un statut très important qui sera impliqué dans le monde car sa richesse alimentaire pour la lutte contre la malnutrition et aussi pour l'amélioration des produits énergétiques.

De même la spiruline, est un complément alimentaire ; plusieurs chercheurs font des expériences sur son effet thérapeutique et sanitaire ils ont trouvé que son intérêt touche plusieurs domaines de vie.

Au terme de notre étude portant sur la culture de spiruline, D'après la photo de microscope optique nous pouvons conclure que la forme de notre souche est droite, une culture en bonne santé est celle de couleur verte .

Nos résultats de dosage montrent que l'extrait hydrométhanolique de spiruline contient une teneur importante des polyphénols avec une valeur moyenne de $(48,51 \pm 0.01)$.

L'étude de *Arthrospira.P* sur les deux voies de la coagulation (voie endogène et voie exogène) par rapport aux taux normaux, a permis d'asseoir que notre espèce n'exerce aucun effet anticoagulant sur les deux voies de la coagulation .

Nous réalisons également l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Spirulina Platensis* contre quatre souches bactérienne, on obtient un spectre d'activité peu important (12mm) contre *Staphylococcus aureus* .

D'après les résultats obtenus dans notre travail la meilleure méthode d'antibiogramme qui peut être utilisée et par comparaison avec les résultats des antibiotiques nous jugeons si l'extrait de la spiruline étudiée peut être considérée comme un agent antibactérien alternatif aux antibiotiques .

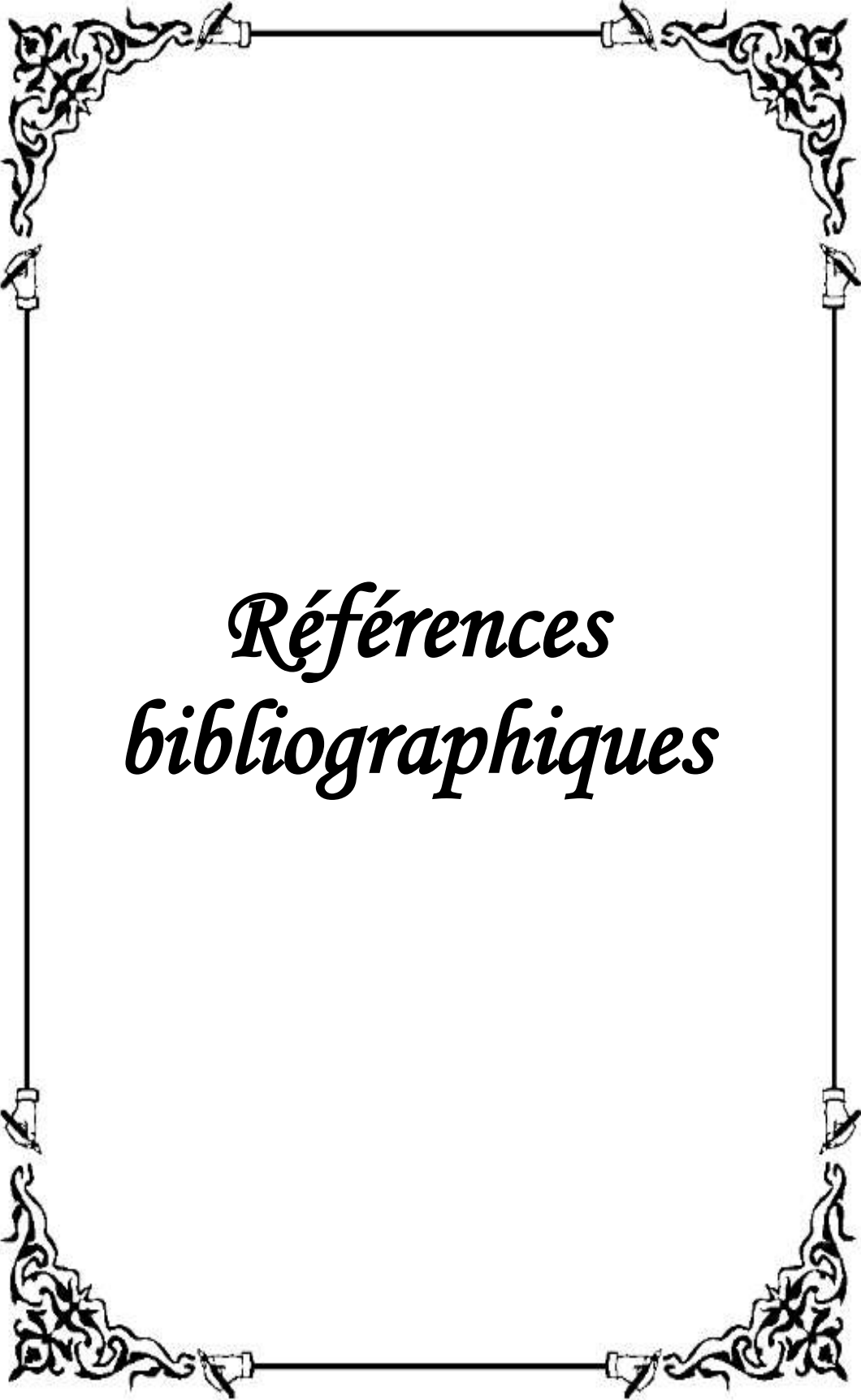
PERSPECTIVES

- La perfection n'étant pas dans ce monde, nous laissons la porte ouverte aux chercheurs qui aborderont ce domaine, de pouvoir compléter ce travail en vérifiant l'effectivité de l'activité de ce micro algue contre les infections bactériennes et le taux de leur toxicité.

- De développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de spiruline, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques.

Ce travail a visé à la sensibilisation de la société à l'intérêt de la culture et l'utilisation de la spiruline et son intégration dans notre régime alimentaire, Ce travail constitue aussi une initiation à l'introduction de la spiruline dans cette région et d'autres études pratiques seront nécessaires à la maîtrise de sa culture.

Puisse notre travail être un vecteur de diffusion de la spiruline partout où elle pourrait aider l'être humain et notre Planète.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

A. L. Lupatini, L. M. Colla, C. Canan, et E. Colla, « Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source: Potential application of microalga *Spirulina platensis* as a protein source », *J. Sci. Food Agric.*, vol. 97, no 3, p. 724-732, févr. 2017.

A. Richmond, Éd., *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford, OX, UK ; Ames, Iowa, USA: Blackwell Science, 2004.

A. S. Babadzhanyan, N. Abdusamatova, F. M. Yusupova, N. Faizullaeva, L. G. Mezhlumyan, et M. K. Malikova, « Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan », *Chem. Nat. Compd.*, vol. 40, no 3, p. 276–279, 2004.

AFAA, Association française pour l'algologie appliquée. Actes du premier symposium sur la spiruline *Spirulina Platensis* (Gom). Geitler de l'AFAA. 1982.

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

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

Antenna Technologies, « Un module d'apprentissage pour la production de spiruline 2012 Statistique CUBIA (2000). *Projet de développement de la production de spirulines*. Tractebel, Consult en Association avec le centre Universitaire de Biotechnologie Algale (CUBIA)

Athukorala, Y., Lee, K.W., Kim, S.K., Jeon, Y.J. (2007): Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresource Technology*, 98, p1711–1716.

Audrey Manet, *La Spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires Et Conseils À L'officine* ; thèse doctorat en pharmacie, 2015/2016

Audrey Manet, *La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine*, thèse doctorat, Université Grenoble Alpes Faculté De Pharmacie De Grenoble, 2016

B

BANKS J., 2007 : Etude de la Spiruline au Palacret, Etudier la Faisabilité de la Mise en Place d'une Filière Spiruline sur le site du Palacret, dans les Côtes d'Armor, Manuel, p 10, 11.

Barth et Leo. (2019). Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, <https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits>,3 ,5,12, 21p

Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.

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.

Bougoffa S et Hamidi .A .,2020 ; Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline (*Spirulina platensis*) sur différentes souches pathogènes dans la région de Ouargla, mémoire de master en Microbiologie Appliquée, UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA ,79.

Bruneton , J. (1993). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2ème Ed.Lavoisier. Paris, 274-285.

C

C. Girardin-Andréani, « Spiruline: système sanguin, système immunitaire et cancer* », *Phytothérapie*, vol. 3, no4, p. 158-161, août 2005.

C. Yang, H. Liu, M. Li, C. Yu, et G. Yu, « Treating urine by *Spirulina platensis* », *Acta Astronaut.*, vol. 63, no 7-10, p. 1049-1054, oct. 2008.

C. Zarrouk, « Contribution à l'étude d'une cyanophycée Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler », Université de Paris, 1966.

Caquet R., 2004 :250 examens de laboratoire : prescription et interprétation (9ème Ed), Masson (Paris); p 388-389.

CHAKRABORTY B., RAJESH P., PRANAY P., 2015 : Antimicrobial Activity of Spirulina platensis Extract Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria- A Comparative Study Available online on www.ijcpr.com International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research ; 6(4) ; 212-214, Research Article.

Charlemagne Déborah. (2008). La spiruline : aliment santé ; Mémoire DIU Alimentation Santé et Micronutrition de la faculté de pharmacie de Dijon. P11

CHARPY L., LANGLADE M. J., ALLIOD R., 2008 : La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique, Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16.

Charpy., Langlade M. J., Alliod R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Institut de recherche pour le développement, Marseille, p 6, 16, 67.

Cheok C, Chin N, Yusof Y, Talib R, Law C. Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. *Industrial crops and Products*. 2013;50:1-7.

Choi., 2020 ; Adsorption behavior of tetracycline onto *Spirulina* sp. (microalgae)-derived biochars produced at different temperatures, article “Science of The Total Environment” Volume 710, Page 136282

E

E. M. Gaydou, « Les constituants alimentaires des cyanobactéries », présenté à Colloque International sur les cyanobactéries pour la santé, la science et le développement, Ile des Embiez var, France, 2004, p. 13.

Evoli conseil 2014 : « Culture et vente de Spiruline : Etude de faisabilité économique », p17, 18, 22, 24.

F

F. Ripley, Spiruline Technique pratique et promesse. Edisud, 1999.

FALQUET, 1996- spirulina : Aspects nutritionnels, document Antenna technologie Genève

Fox R.D. Spiruline, Technique pratique et promesse. Aix en provence: Edisud; 1999

G

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, 17, 25, 26. 46, 108, 109, 111, 112.

H

Habib MAB, éditeur. A review on culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2008. 33 p. (FAO fisheries and aquaculture circular).

I

Isabelle Laurent , La spiruline (*Spirulina platensis*), de l'aliment au médicament : utilisations et conseils à l'officine , Thèse doctorat ; Université de Lorraine 2019.

Ismail MF, Ali DA, Fernando A, et coll. (2009) Chemoprevention of rat liver toxicity and carcinogenesis by *Spirulina*. *Int J Biol Sci.* 5 :377-87.

J

J. Falquet et J. P. Hurni, *Spiruline: aspects nutritionnels*. Flamant vert, 1986.

J.-F. Cornet, C. G. Dussap, J.-B. Gros, C. Binois, et C. Lasseur, « A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors », *Chem. Eng. Sci.*, vol. 50, no 9, p. 1489–1500, 1995.

J.-P. Jourdan, « Manuel de culture artisanale de spiruline ». 2016.

Jourdan J., 1999. Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale. Antenna technology. Genève, Suisse, 126 p.

L

Lana Daude, L'utilisation des algues en pharmacie et parapharmacie, thèse doctorat, Université Clermont Auvergne UFR De Pharmacie, 2021 .

M

Melle Louvel Soizic, La spiruline : Intérêts humanitaires et thérapeutiques, thèse doctorat, la Faculté de pharmacie de Marseille ,2019

Morgan Proy, La spiruline et son utilisation à l'officine, thèse doctorat, Université De Picardie Jules Verne ,2019.

N

N'goran Urbain Florent Niangoran , Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse, thèse doctorat, L'université De Toulouse,2017 .

O

Otleş S, Pire R. (2001) Fatty acid composition of Chlorella and Spirulina microalgae species. J AOAC Int. 84: 1708-14.

P

P. H. Ravelonandro, D. H. Ratianarivo, C. Joannis-Cassan, A. Isambert, et M. Raherimandimby, « Influence of light quality and intensity in the cultivation of Spirulina platensis from Toliara (Madagascar) in a closed system », J. Chem. Technol. Biotechnol., vol. 83, no 6, p. 842-848, juin 2008.

Patel S, Goyal A. (2013) Current and prospective insights on food and pharmaceutical applications of spirulina. Curr. Trends Biotechnol. Pharm. p.681-95.

Q

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

R

Rao, A. R., Reddy, A. H., & Aradhya, S. M. (2010). Antibacterial properties of *Spirulina platensis*, *Haematococcus pluvialis*, *Botryococcus braunii* micro algal extracts. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 4(3), 809-819.

Ross E., Dominy W. The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry. *Poultry Science*. May 1990; 69 (5): p. 794-800.

S

Shao, W., Ebaid, R., El-Sheekh, M., Abomohra, A., & Eladel, H. (2019). Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of *Spirulina* (*Arthrospira*): An overview. *Grasas y Aceites*, 70(1), 292.

SINGLETON V.L. et ROSSI J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic, phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol.*, 16, 144-151.

Soizic Louvel. 2019 , La spiruline : intérêts humanitaires et thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. ffdumas-02294252f , thèse en vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie

T

T. O. Bellahcen. A. Bouchabchoub, M. Massoui, et M. E. Yachoui, « Culture et production de *spirulina platensis* dans les eaux usées domestiques », *LARHYSS J.* ISSN 1112-3680, no 14, 2013.

Tremblin G., Moreau B., 2017 : La Spiruline sera-t-elle l'Aliment Miracle du XXIème siècle Article, Le Mans Université.

V

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

Vidalo J-L. Spiruline : l'algue bleue de santé et de prévention. Paris: Éditions du Dauphin; 2015. 350 p.

W

Wang L, Weller CL (2006) recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology 17 (6):p300-312.4.

Y

Youbare, 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, p1

Z

Z. Dubinsky, Éd., Photosynthesis. InTech, 2013.

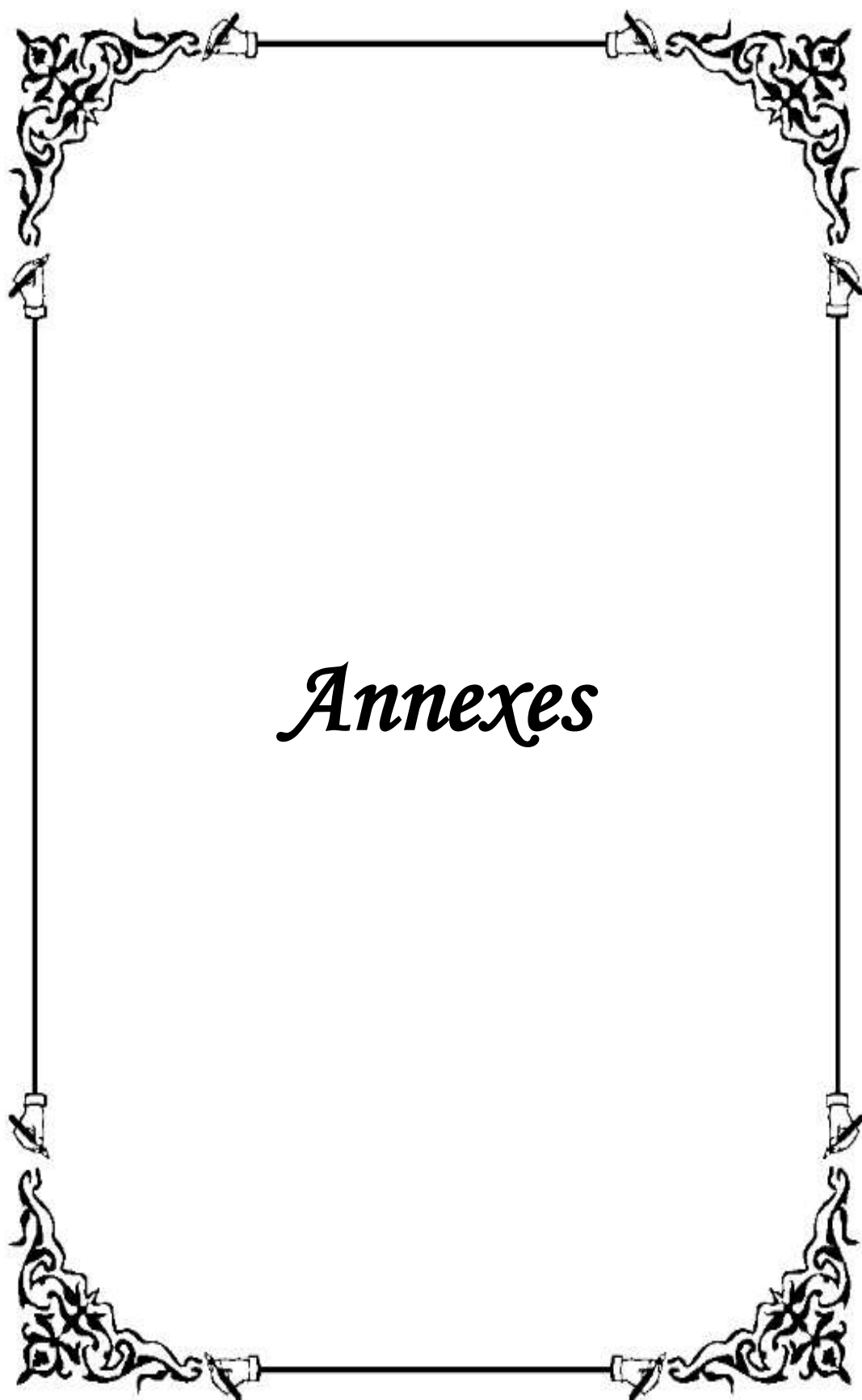
Zarrouk, C. (1966). Contribution a l'étude d'une Cyanophyce. Influence de Divers Facteurs Physiques et Chimiques sur la croissance et la photosynthese de Spirulina mixima. Thesis. University of Paris, France.

Sites web

- Oxid med longev: 2017 :

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5274660/figure/fig1/>

- CASAL A., 2019 : l'Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, www.spirulinefrance.fr.



Annexes

Annexe 1

Matériel non biologique

- Pompe air aquarium
- Résistance aquarium
- Lampe
- Plastique pour la couverture
- Diffuseur d'air
- Minuteur
- Balance
- PH mètre
- Microscope optique
- Thermomètre Verrerie (Bécher, Flacons, tubes à essai...)
- Spectrométrie
- Agitateur
- Fiole jaugée
- Autoclavage
- Hotte
- Balance analytique
- Erlenmayers
- Bécher
- pipettes graduée
- papier filtre de type wattman
- Boites de pétrie plastique

Les solvants et les réactifs

Bicarbonate de sodium, hydrogène phosphate de potassium, Nitrate de sodium, Sulfite de potassium, Chlorure de sodium, Sulfate de magnésium, Chlorure de calcium, Sulfate de fer, EDTA, Acide borique, Chlorure de manganèse, Sulfate de zinc, Sulfate de cuivre, Trioxyde de molybdène, méthanol, Folin de ciocalteur, Carbonate de sodium, DMSO, Acide gallique, Cephalin _kaolin, Thromboplastin calcique, Mueller hinton, Gentamicin, Cotrimoxazol (SXT25), l'eau distillée

Annexe 2

Tableau : Facteurs de la coagulation plasmatique (Boisseau, 1996).

N° de facteurs	Nom de facteurs	Rôle	Lieu de synthèse
I	Fibrinogène	Substrat	Fois
II	Prothrombine	Zymogène	Fois
III	Facteur tissulaire	Cofacteur	Sous-Endothélium Cellules sanguines
V	Proaccélérine	Cofacteur	Foie
VII	Proconvertine	Zymogène	Foie
VIII	Facteur antihémophilique A	Cofacteur	Foie
IX	Facteur	Zymogène	Foie

	antihémophilique B		
X	Facteur STUART	Zymogène	Foie
XI	Facteur de Rosenthal	Zymogène	Foie
XII	Facteur de Hageman	Zymogène	Foie

Annexe 3

1. Dosage de polyphénols

-La courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax$) est effectuée par l'acide gallique

Concentration (mg/ul)	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	méthanol
Solution mère (ul)	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0
Méthanol (ul)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
abs	1.355	1.242	1.05	0.932	0.711	0.611	0.47	0.271	0.217	0

Annexe 4

Tableau : Activités biologiques de quelques composés phénoliques selon : **Bruneton, 1999 ; Balasundram et al., 2006 ; Hennebelle, 2007 ; Li et al., 2007 ; Habauztt et Horcajada, 2008 ; Bondla et al., 2009 ; Gresele et al., 2011 ; KEBBAB, 2014)**

Composés phénoliques	Activité biologique
Acides phénols	Antifongique, antioxydant, antibactérienne
Tanins	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant Anti diarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.
Flavonoides	Anti tumorale, anti carcinogène, anti-inflammatoire, antioxydant, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, anti-bactérienne, hypotenseur, diurétique.
Coumarines	Anticoagulante, antioxydant, protectrice vasculaire et anti-œdémateuse
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants anti-tumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydants
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques.