



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



## **Université Amar Thelidji- Laghouat**

**FACULTE : SCIENCES**

**DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES**

### **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : BENBOUZID Souad et BENZIDI Abir**

**DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)**

**FILIERE : SCIENCES ALIMENTAIRES**

**OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITÉ**

### **Thème**

**ÉTUDE COMPARATIVE DE LA QUALITÉ PHYSICOCHIMIQUE  
ET MICROBIOLOGIQUE DE DEUX SPIRULINES (*Arthrospira  
Platensis*) COMMERCIALISÉES EN ALGÉRIE**

**Soutenu le 04/07/2022**

#### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
M <sup>me</sup> HAMINI Faiza	Maître Assistant « A »	Présidente
M LAOUADI Mourad	Maître de Conférences « A »	Examineur
M <sup>me</sup> LOUNICI Safia	Maître Assistant « A »	Rapporteur
M <sup>me</sup> OTMANI Reguia	Doctorante	Co-rapporteur

**Promotion : Juin- Juillet 2022**

# Remerciement

*Avant tout, Nous remercions Allah le Tout Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.*

*Nos remerciements s'adressent particulièrement à notre chère promotrice Mme. LOUNICI S., pour avoir dirigé ce mémoire.*

*Nous la remercions Infiniment pour la confiance et le respect qu'elle nous a toujours accordée et pour les idées qui nous ont beaucoup aidées à progresser. Sa haute compétence, ses qualités humaines, ses conseils judicieux ont été pour nous une source inestimable de réconfort et d'encouragements pour mener à terme ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.*

*Nous remercierons Madame HAMINI F. Maitre-Assistant <A> à l'université de Laghouat, qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de jury; Merci pour la qualité de vos corrections et vos conseils.*

*Nous remercierons Monsieur LAOUADI M. Maitre de conférence<A>, à l'université de Laghouat, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail; Merci pour la qualité de vos corrections et vos conseils.*

*Nous désirons aussi remercions notre Co-promotrice OTHMANI R., Doctorante, à l'université de Laghouat, pour son suivie, ses conseils, ses orientations, sa gentillesse et ses encouragements qu'elle nous a toujours accordée.*

*Nos remerciements s'adressent à tout le personnel du laboratoire vétérinaire régional de Laghouat surtout : Mme TOBBICHE F., Mme BOUCHOUIREB H., pour leur estimable participation à la réalisation de ce travail, leur disponibilité et leur gentillesse.*

*Nos remerciements s'adressent également l'équipe du laboratoire de recherche en sciences fondamentales surtout Pr.Youcefi et Dr.Harath .*

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à Mr. DJOKHDEM L., pour son aide, son soutien, ses conseils, et pour ses qualités scientifiques et humaines.*

*Nous remercions à tous les enseignants et les ingénieurs de laboratoire de Département d'Agronomie et Biologie de Laghouat.*

*En fin nous remercions tous qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

# Dédicace

✓ *Mes chers parents « Mr. Ali et Mme Kheddoudj »*

Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et pour tout ce que vous avez faites durant les moments les plus fatigants Surtout ces derniers jours.

Je vous aime pour toujours

✓ *Mes adorables frère et sœur « Mahmoud et Aisha »*

Vous m'avez toujours soutenue, encouragée, supportée durant ces longues années d'études, vous avez toujours cru en moi et de m'avoir fait confiance. Merci pour tout ce que vous faites pour moi.

✓ *Ma Jasmine, Abeer*

Chère sœur, N'oublie jamais tout l'amour que j'ai pour toi. T'es mon bras droit, mon souffle et aussi ma meilleure amie tu resteras toujours mon binôme.

Merci d'être toujours là, dans les bons et les moins bons moments, Quand je t'appelle, tu m'écoutes. Quand j'ai besoin d'un avis, tu es toujours là pour me conseiller. Quand j'ai une folie en tête, tu es toujours là pour m'aider à la concrétiser.

Je suis vraiment chanceuse de t'avoir à mes côtés.

✓ *Mes âmes sœurs « Nadja, Souma »*

Vous n'étiez jamais des amis seulement. Vous étiez toujours mes sœurs, Merci d'être toujours à mes côtés, je n'oublie jamais vos mots qui me font rire durant les moments de pleurs, de faiblesses et de dépression. Merci pour tout ce que vous avez faites pour moi.

✓ *Dear Amina*

I want to say thank you for everything .you're the person who have listened to me without judgment, helped me without entitlement, understood without pretension and loved me without conditions .thanks for your support, trust and especially your daily messages .

You're not only a friend you're a sister ,I hope we can meet one day, love you

✓ *Chères copines khaoula Bouchra, Rihab et Fousra*

Merci pour les bons et les moins bons moments qu'on a passés ensemble durant toute la période d'université.

Je remercie toute la promo de 2022 pour tous les moments qu'on a passés ensemble <3



**SOU BE**

# Dédicace

Je dédie ce mémoire :

- ✓ A la prunelle de mes yeux, à l'amour de ma vie, **ma mère**, qui m'a soutenu tout au long de mes années scolaires pour son sacrifice et son soutien, m'a donné confiance, courage et sécurité.
- ✓ A mon très cher **père**, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma profonde gratitude pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance.

« Que ce travail soit le fruit de vos prières et sacrifices, que Dieu tout puissant vous procure santé, bonheur et longue vie ».

- ✓ A mon frère **Mohamed** et ma petite sœur **Lina**.
- ✓ A ma deuxième mère **Khadîdja** et ma chère cousine **Amina**.
- ✓ A mon grand-père **Ibrahim Chaoui** que Dieu le tout puissant vous protège.

✓ A ma chère binôme **Souad**

Ma belle, tu es la personne la plus courageuse et la plus altruiste que je connaisse, et chaque jour que je passe avec toi est un cadeau exceptionnel que Dieu m'offre, sans toi je n'aurais pas survécu ces derniers mois, sans toi je ne me tiendrai pas là aujourd'hui, je suis souriante et courageuse grâce à tes efforts. Merci pour tout ce que tu fais pour moi. Pour chaque défi et chaque obstacle auxquels on est confrontés, je sais qu'on va les surmonter ensemble Je t'aime.

✓ A mes âmes sœurs « **Souna, Bouchra, Youssra, Rihab, Khaoula, Assoum** »

Merci infiniment d'être toujours là pour moi et pour me supporter, encouragé pendant tous les moments difficiles vécus, je vous aime mes chères.

\* إلى من تشبه الزهور على مشارف التلال الباسقة، إلى البعيدة جداً، القريبة لي وكأنتها هنا « بشري حجاج »

✓ Je remercie toute la promo de ACQ 2022 pour tous les moments qu'on a passés ensemble.

✓ & A tous ceux qui m'aiment et que j'aime.



Abell

## Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
01	Taxonomie récapitulative.	6
02	Teneur de la spiruline en acide aminés.	22
03	Principaux acides gras de la spiruline.	25
04	Teneur de la spiruline en vitamines en comparaison avec les besoins Journaliers des vitamines.	27
05	Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de <i>Arthrospira platensis</i> .	29
06	Teneur moyenne des minéraux.	31
07	Caractéristique des souches microbienne testées	58
08	Résultats de la détermination de la granulométrie de la poudre des deux spirulines.	61
09	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux d'humidité (%) dans la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne	63
10	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de la matière sèche (%) dans la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.	64
11	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux du cendre (%) dans les Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.	65
12	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des pH des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.	66
13	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de protéine (%) dans les deux souches étudiées de spiruline.	68
14	Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de matière grasse (%) dans les <i>Spiruline Algérienne</i> et <i>Spiruline Hawaïenne</i> .	70
15	Résultats des germes recherches dans les deux souches de spiruline.	73
16	Cinétique de l'évolution de la concentration en phycocyanine dans les différents extraits.	76

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Le peuple Kanembou récolte la spiruline au bord du lac Tchad et la fait séchée dans le sable au soleil.	5
02	Schéma de la structure d'une cyanobactérie.	6
03	Les différents aspects de la spiruline.	7
04	Morphologie de <i>A. Platensis</i> .	8
05	Répartition géographique de la spiruline.	9
06	Cycle biologique de reproduction de la spiruline.	10
07	La production mondiale de la spiruline.	10
08	Paramètres influencent la croissance de la spiruline.	12
09	Les étapes générales de la production de la spiruline.	14
10	Diagramme des flux pour la culture et la production de spiruline.	15
11	Différents de bassins de culture.	16
12	Les valeurs nutritionnelles moyennes de la spiruline.	20
13	Les bienfaits de la spiruline.	20
14	Diagramme de comparaison du taux de protéines de la spiruline par rapport à d'autres aliments.	21
15	Structure chimique de la chlorophylle.	29
16	Structure chimique de la phycocyanine.	30
17	Photographie montrant un échantillon de la spiruline Algérienne.	38
18	Photographie montrant un échantillon de la spiruline hawaïenne.	39
19	Photographie montrant le dispositif utilisé pour l'analyse granulométrique.	40
20	Photographie de la détermination du taux de cendres.	42
21	Photographie montrant les étapes de la détermination du taux de matière grasse.	43
22	Photographie montrant l'étape de la distillation.	44

23	Photographie montrant le titrage de la solution à analyser par l'acide chlorhydrique.	45
24	Photographie des surnageants obtenus utilisés pour la détermination de la teneur en pigments (Chla ; Chlb et Car).	46
25	Photographie des extraits aqueux de phycocyanine obtenus.	48
26	Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.	48
27	Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.	49
28	Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.	50
29	Distribution des échantillons d'après l'CINM.	51
30	Représentation d'un plan d'interprétation, des résultats microbiologiques, à trois classes	57
31	Représentation d'un plan d'interprétation, des résultats microbiologiques, à trois classes	57
32	Photographie montrant l'aspect des différentes fractions de la spiruline de Tamanrasset issu après l'analyse granulométrique	61
33	Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux d'humidité (%) de la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.	63
34	Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de la matière sèche (%) de la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.	64
35	Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de cendre (%) des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne	65
36	Planche représentative des boîtes à moustache des différents pH des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.	67
37	Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de protéine (%) de la Spiruline Algérienne et de la Spiruline Hawaïenne.	68
38	Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de la matière grasse (%) des <i>Spiruline Algérienne</i> et <i>Spiruline Hawaïenne</i> .	69
39	Histogrammes représentatifs de la teneur en chlorophylle a et chlorophylle b des deux spirulines	70
40	Histogrammes des rendements d'extraction de la phycocyanine	71
41	Cinétique de l'évolution de la concentration en phycocyanine dans les différents extraits.	72
42	Histogrammes représentant la pureté des extraits de la phycocyanine	73
43	Photographie montrant le résultat de la recherche de <i>Clostridium perfringens</i> .	75

## *Liste des abbreviations*

W.H.O: World Health Organization

UNICEF : Fondes des Nations Unies pour l'Enfance

OMS : Organisation Mondial de la Santé.

IIMSAM: Intergovernmental Institution for the use of Micro-algae Spirulina against Malnutrition.

UNECOSOC : Conseil Economique et Social des Nations Unies

NIH: National Institutes of Health

FDA: Food and Drug Administration

EFSA : Autorité Européenne de Sécurité des Aliments.

FAO: Food and Agriculture Organization

AJR: Apports Journaliers Recommandés.

PER : Protein Efficiency Ratio.

NPU : Utilisation Protéique Nette.

PBP: Phyco-Bili-Protéine.

C-PC : C-Phycocyanine.

ROS : Système Réactive de l'Oxygène.

CINM : Commission Internationale des Normes Microbiologique

# Tableau des matières

<b>Remerciement</b> .....	<b>I</b>
<b>Dédicace</b> .....	<b>II</b>
<b>Résumé</b>	
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>III</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>IV</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>V</b>
Introduction .....	1
<b><u>Partie I:</u> <i>Partie bibliographique</i></b>	
I. Généralités sur la spiruline.....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. Historique .....	3
I.3. Classification taxonomique .....	5
I.4. Morphologie.....	7
I.5. Répartition géographique.....	8
I.6. Reproduction biologique.....	9
I.7. Production de la spiruline.....	10
I.7.1. Dans le monde.....	10
I.7.2. En France.....	11
I.7.3. En Algérie.....	11
I.8. Culture de la spiruline.....	11
I.8.1. Milieu de culture.....	12
8.1.1. L'eau .....	12
8.1.2. Nourriture.....	12
8.1.3. Température .....	12
8.1.4. Luminosité et agitation.....	13
8.1.5. pH.....	13
I.8.2. Récolte de la spiruline.....	13
I.8.3. Production artisanale .....	14
8.3.1. Bassins de culture.....	16

8.3.2. Récolte et extrusion .....	16
8.3.4. Séchage et conditionnement.....	17
I.8.4. Production Industrielle et semi-industrielle .....	17
II. Composition et propriétés de la Spiruline.....	19
II.1. Composition de la spiruline.....	19
II.1.1. Protéines et acides aminés de la spiruline .....	21
Teneur en acides amines .....	21
La phycocyanine .....	23
II.1.2. Lipides.....	25
II.1.2.1. Acides gras (Fraction saponifiable).....	25
II.1.2.2. Fraction insaponifiable .....	26
II.1.3. Glucide.....	26
II.1.4. Acides nucléiques.....	26
II.1.5. Vitamines.....	26
<b>II.1.5.1. Vitamines hydrosolubles.....</b>	<b>27</b>
II.1.5.2. Les vitamines liposolubles .....	28
II.1.6. Pigments.....	28
II.1.6.1. La chlorophylle.....	29
II.1.6.2. Phycocyanine.....	29
II.1.6.3. La Bêta-carotène .....	30
II.1.7. Minéraux et oligoéléments .....	30
II.1.8. Métaux lourds.....	31
III. Utilisation de la spiruline.....	32
III.1. En santé humaine.....	32
La lutte contre la mal nutrition.....	32
Stimulation du système immunitaire .....	32
Activité antioxydante .....	33
Activité antimicrobienne .....	33
Activité antivirale.....	34
Activité anti-hypercholestérolémiant .....	34
Autres effets .....	34
III.2. En alimentation animale.....	35
III.3. En cosmétique.....	36
III.4. En Agriculture.....	36
III.5. En Agroalimentaire.....	36

IV. Toxicité de la spiruline.....	36
<b>PartieII: Partie Exprimmentale</b>	
Partie II. Matériel et Méthodes.....	38
I – Matériel .....	38
I.1. - Matériel biologique.....	38
I.2.Matériel technique.....	39
II - Méthodes d’analyses .....	39
II.1. – Méthodes d’analyses biochimiques .....	39
II.1.1 – Analyse granulométrique par tamisage.....	39
II.1.2 - Détermination de la teneur en eau et en matière sèche.....	40
II.1.3.Détermination du taux de cendres.....	41
II.1.4 - Détermination de la teneur en matière grasse.....	42
II.1.5 - Détermination de la teneur en protéines.....	43
II.1.6 - Dosage des pigments : la chlorophylle a, b .....	46
II.1.7 - Dosage de la phycocyanine.....	47
II.2. – Méthodes d’analyses microbiologiques.....	48
II.2.1 – Préparation de la suspension mère des diluions .....	48
II.2.2 – Dénombrement des germe aérobies mésophiles totaux .....	50
II.2.3 – Recherche et dénombrement de coliformes fécaux.....	52
II.2.4 – Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus .....	53
II.2.5 – Recherche de Salmonella .....	54
II.2.6 – Recherche et dénombrement des Spores de bactéries anaérobies sulfite réducteurs et de Clostridium perfringens.....	55
II.3.paln d'echantillonage.....	56
II.3.1.Paln a trois classes.....	56
II.3.2.Paln a deux classes.....	57
II.4. – Évaluation de l’activité antibactérienne.....	58
II.4.1 – Préparation des extraits de Spiruline.....	58
II.4.2 – Antibiogramme .....	59
III – Analyses statistiques.....	60

Partie II. Résultats et Discussions .....	61
II.1. Résultats des analyses physicochimiques .....	61
II.1.1. Analyse granulométrique .....	61
II.1.2. Taux d'humidité .....	62
II.1.3. Taux de matière sèche .....	63
II.1.4. Taux de cendre .....	64
II.1.5. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) .....	66
II.1.6. Taux de Protéine .....	68
II.1.7. Taux de la matière grasse .....	69
II.1.8. Extraction de la phycocyanine .....	71
II.2. Les résultats des analyses microbiologiques : .....	73
II.3. les résultats de l'antibiogramme .....	76
Conclusion .....	77

## **Références bibliographiques**

## **Annexe**

## Résumé :

Le but de notre étude est de comparer la qualité physicochimique et microbiologique de deux poudres de spiruline commercialisées en Algérie. Deux Spirulines ont été choisies à savoir la spiruline de Tamanrasset produite en Algérie et la Spiruline Hawaïenne : produite à Hawaï. Ainsi l'activité antibactérienne la cinétique d'extraction de la phycocyanine ont été évaluées. Les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques ont montré que les paramètres étudiés présentent parfois des différences non significatives dans la teneur en eau et en matière grasse ; cependant la teneur en cendres présente une différence significative et une différence hautement significative a été observée dans la teneur en protéines et le pH. En effet et outre la méthode d'analyse choisie, plusieurs facteurs déterminent ces teneurs : souche ; composition du milieu de culture, luminosité, température et même d'autres facteurs tels le moment de la récolte, le mode de séchage et même le conditionnement. Les analyses microbiologiques montrent que les deux spirulines présentent une qualité microbiologique non satisfaisante à la suite d'une contamination *Clostridium perfringens*. La charge des deux spirulines en flore aérobie mésophile totale et les Anaérobies sulfite-réducteurs est faible. La recherche des Coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et du genre *Salmonella* a révélé des résultats négatifs. L'étude de l'activité antibactérienne a montré que *E. coli* était sensible à un traitement avec la solution aqueuse à 4% de spiruline. L'extraction de la phycocyanine semble être plus efficace avec des concentrations de 1% de spiruline et après une macération de 24 à 48h. À l'issue de cette étude, les deux spirulines sont jugées de qualité microbiologique dangereuse. La composition des deux spirulines présente une différence nette et la spiruline de Hawaï est significativement plus riche en protéines et en minéraux.

**Mots clés :** qualité physicochimique, qualité microbiologique, *Arthrospira platensis*, spiruline, phycocyanine.

## Abstract:

The object of our study is to compare the physicochemical and microbiological quality of two spirulina powders marketed in Algeria. Two Spirulina were chosen, namely the Spirulina of Tamanrasset produced in Algeria and the Hawaiian Spirulina: produced in Hawaii. Thus, the antibacterial activity and the extraction kinetics of the phycocyanin were evaluated. The results obtained for the physicochemical analyses showed that the studied parameters sometimes present non-significant differences in the water and fat content; however, the ash content presents a significant difference and a highly significant difference was observed in the protein content and the pH. In fact, in addition to the chosen method of analysis, several factors determine these contents: strain, composition of the culture medium, luminosity, temperature and even other factors such as the time of harvest, the drying method and even the packaging. Microbiological analyses show that both spirulina have an unsatisfactory microbiological quality due to *Clostridium perfringens* contamination. The load of the two spirulina in total aerobic mesophilic flora and sulfite-reducing anaerobes is low. The search for faecal coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* genus revealed negative results. The study of antibacterial activity showed that *E. coli* was sensitive to treatment with the 4% aqueous solution of spirulina. Phycocyanin extraction seems to be more efficient with 1% spirulina concentrations and after a 24 to 48h maceration. At the end of this study, both spirulina are considered of dangerous microbiological quality. The composition of the two spirulina shows a clear difference and the Hawaiian spirulina is significantly richer in proteins and minerals.

**Keywords:** physicochemical quality, microbiological quality, *Arthrospira platensis*, spirulina, phycocyanin.

## المخلص

الهدف من دراستنا هو مقارنة الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لنوعين من سبيرولينا التي يتم تسويقها في الجزائر. تم اختيار اثنين من سبيرولينا، وهما: سبيرولينا من تمنراست المنتجة في الجزائر و سبيرولينا هاواي: المنتجة في هاواي. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا واستخلاص الفيكوسيانين.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن العناصر المدروسة تظهر في بعض الأحيان اختلافات غير معنوية في محتوى الماء والدهون. ومع ذلك، فإن محتوى المواد المعدنية يمثل فرقا معنويا وملاحظة اختلاف كبير في محتوى البروتين ودرجة الحموضة. في الواقع، بالإضافة إلى طريقة التحليل المختارة، هناك عدة عوامل تحدد هذه المحتويات: السلالة، وتكوين وسط الزرع، الإضاءة، درجة الحرارة، وحتى عوامل أخرى مثل وقت الحصاد، وطريقة التجفيف والتعليق. تظهر التحليلات الميكروبيولوجية أن كلتا السبيرولينا لهما جودة ميكروبيولوجية غير مرضية بسبب تلوثها بـ *Clostridium perfringens*. كلتا سبيرولينا لديها حمولة منخفضة من *Anaérobies sulfite-réducteurs* و *flore aérobie mésophile totale*.

أظهر البحث عن *Salmonella* و *Staphylococcus aureus*، *Coliformes fécaux* نتائج سلبية.

حيث أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا أن الإشريكية القولونية كانت حساسة للعلاج بالمحلول المائي من سبيرولينا بنسبة 4%

استخراج الفيكوسيانين مع تركيزات 1% من السبيرولينا يكون أكثر كفاءة بعد 24 إلى 48 ساعة من النقع.

في نهاية هذه الدراسة، تعتبر كل من السبيرولينا ذات جودة ميكروبيولوجية خطيرة. يُظهر تكوين السبيرولينا اختلافًا واضحًا، كما أن سبيرولينا هاواي أكثر ثراءً في البروتينات والمعادن.

**الكلمات المفتاحية:** *Arthrospira platensis*، الجودة الفيزيائية والكيميائية، الجودة الميكروبيولوجية، سبيرولينا، فيكوسيانين

# INTRODUCTION

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 » (Goulamabasse,2018). Elle est qualifiée aussi par l'OMS de « meilleur aliment pour l'humanité du XXIème siècle », et par le ministère de la santé chinois de « complément alimentaire de premier ordre » pour sa riche composition, et pour ses nombreuses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques, qui font aussi de cette cyanobactérie une alliée dans la lutte contre la malnutrition dans les pays en voie de développement (Ahounou,2018).

La spiruline ou *Spirulina platensis*, est en réalité une cyanobactérie du genre *Spirulina* ou *Arthrospira*, anciennement appelée « algue bleue ». Elle est consommée depuis plusieurs siècles par des peuples d'Amérique centrale et d'Afrique pour ses propriétés nutritionnelles au vu de sa riche composition en protéines, vitamines ou minéraux (Laurent, 2019), Elle vit de photosynthèse comme les plantes et prospère naturellement dans les lacs salés et alcalins des régions chaudes du globe (Jordan,1999).

Cette algue bleu-vert connaît par sa valeur nutritive élevée en protéines (60-70% en poids sec), vitamines, minéraux, acides gras essentiels, constitué une bonne source de chlorophylle, de caroténoïdes et surtout de phycocyanine. Ses composants ont des avantages positifs pour la santé humaine, elle possède des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, immunostimulantes, antitumorales et antibactériennes (Seghir et *al.*,2020),

La composition de la spiruline varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi par le taux d'ensoleillement et par le fait que certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras (Goulamabasse,2018).

Au-delà de ses propriétés nutritionnelles, certains scientifiques s'intéressent à la spiruline pour ses potentielles vertus thérapeutiques dans le diabète, les allergies ou encore les troubles neurologiques. Autant dire un bien grand panel de vertus diverses et qui intrigue (Laurent, 2019).

La spiruline est maintenant cultivée dans de grandes usines aux USA, en Inde, en Chine, en Thaïlande et aussi de façon semi-artisanale, car on lui découvre toujours plus de qualités intéressantes pour l'alimentation et la santé tant pour les Hommes que pour les animaux (Jourdan, 1999).

Dans le cadre de ce travail, nous intéressons à mieux connaître et à comparer la composition biochimique et biologique de deux poudres de spiruline commercialisées en Algérie. Cette étude nous permet d'en apprécier leurs qualités physico-chimique et microbiologique ; faire une comparaison de la qualité physicochimique de deux poudres de spiruline, à savoir la spiruline de Tamanrasset et la spiruline Hawaïenne ; d'évaluer leurs qualités microbiologiques et d'optimiser l'extraction de la phycocyanine dans l'eau.

La problématique qui se dégage, consiste à démontrer l'importance de la consommation de la spiruline ; mais aussi à voir s'il existe une différence dans la composition des deux spirulines : plusieurs spirulines sont commercialisées et aussi une même spiruline peut avoir une composition différente. Un autre axe a visé l'optimisation de l'extraction aqueuse de la phycocyanine, protéine majoritaire de la spiruline.

Après l'introduction, notre travail est divisé en 3 parties principale :

- Une partie bibliographique qui représente deux chapitres
  - Chapitre I : Généralités sur la spiruline
  - Chapitre II : Composition et propriétés de la spiruline
- Une 2<sup>ème</sup> partie de Matériel et méthodes consacré à la présentation du matériel et méthodes utilisées.
- Une 3<sup>ème</sup> partie de résultats et discussions des résultats de la qualité physicochimique et microbiologiques des spirulines commercialisées en Algérie.

En fin une conclusion des résultats essentiels.

*PARTIE*  
*BIBLIOGRAPHIQUE*

*CHAPITRE I :*  
*Généralités sur la spiruline*

## I. Généralités sur la spiruline

### I.1. Définition

La spiruline, aussi connue sous le nom de « *spirulina* ou *Arthrospira platensis* », est une cyanobactérie filamenteuse, faisant partie des algues de couleur bleu-verte, un micro-organisme de type procaryote, elle est considérée comme étant une micro-algue en raison de sa taille microscopique (Jung et al., 2019). Cette micro-algue à caractère multicellulaire, se multiplie dès que la température de l'eau dépasse 30°C (Vonshak et Avigad, 1997). La plupart des spirulines se développent dans les régions tropicales et subtropicales, des plans d'eau chaude, alcalines, fortement minéralisés, à haute teneur en carbonate et bicarbonate, et à pH et salinité relativement élevés (Scheldeman, 1999).

Elle est reconnue comme l'un des aliments les plus nutritifs de la planète : très riche en protéines, elle est donc, tout naturellement, utilisée comme un complément alimentaire, mais parfois comme un repas complet., les scientifiques et les chercheurs se sont de plus en plus intéressés à ce « *super-aliment* » et ses qualités nutritionnelles exceptionnelles. Ce n'est plus seulement d'une question de valeur nutritive, Elle est aussi entrée dans le domaine pharmaceutique, cosmétique et de l'industrie alimentaire (Scheldeman, 1999).

### I.2. Historique

Il y a 3,6 milliards d'années, durant le précambrien, les premières formes de vie, les cyanobactéries, sont apparues sur terre, parmi lesquelles, une minuscule algue bleue, la spiruline. Elle est donc l'un des micro-organismes vivant le plus ancien de la planète. Elle est utilisée par de nombreux peuples dans l'antiquité, puis par les Aztèques et les populations du lac Tchad qui la récoltaient à la surface des lacs grâce à des filets à mailles très fines. Séchée, elle était utilisée comme farine pour les tortillas et gâteaux (Manet, 2016). Plusieurs légendes entourent l'origine de l'utilisation de la spiruline :

- En 1492, La spiruline fut tout d'abord découverte en 1492 par Christophe Colomb au Mexique où les Aztèques la consomment sous forme de petites galettes vertes séchées (Lounici, 2010) .
- Au XVIe siècle, *A. platensis* a été isolé pour la première fois du lac Texcoco par les Aztèques et ils appelé "*Tecuitlatl*" (Habib et al.,2008).

- Plus tard, Dangeard est tombé sur la tribu Kanembu qui avait été récolter ces excellentes microalgues du lac Tchad en Afrique sous le nom de "Dihé". Celles-ci étaient utilisées par les gens malades ou après les accouchements et également par les blessés, *A. platensis* qui avait été utilisé aussi pour le pain, les repas et les gâteaux dans les années 1940 (Gatugel et al., 2000).
- En 1964, la *A. platensis* a été analysé chimiquement et il a rapidement suscité des recherches, Pendant des années, des études ont commencé sur ces microalgues par des botanistes, des microbiologistes et des scientifiques, mais aussi revu par certains chercheurs (Zarrouk, 1966).
- En 1967, *World Health Organization* (W.H.O) et *United nations Of international children's Emergency Fund* (UNICEF) reconnaissent les propriétés de la *A. platensis* et elle a été présenté comme une « merveilleuse future source de nourriture » par *International Association of Applied Microbiologie* (Vonshak, 1997).
- Au début des années 1990, la NASA a étudié la culture de *A. platensis* comme source de nourriture à long terme (Tadros et al.,1988).
- L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a signalé que *A. platensis* ne présente aucun risque et est un bon aliment supplément pour la santé. En 2003, l'Institution intergouvernementale a étudié cette microalgue pour la malnutrition (IIMSAM) et a développé une charte avec l'Conseil économique et social des Nations Unies (UNECOSOC). Ils ont convenu que la spiruline devrait être utilisé contre la malnutrition chez l'homme, en particulier dans les pays en développement (Seyidoglu et al., 2016).
- En 2011, le *National Institutes of Health* (NIH) ont proposé que *A. platensis* puisse être utilisé chez l'homme recherche, mais ils ont demandé des études supplémentaires sur les effets de la spiruline (Seyidoglu et al., 2016).
- En 2012, *A. platensis* était suggéré comme complément alimentaire sûr par *Food and Drug Administration* (FDA). Ils ont recommandé une dose quotidienne de 3 à 10 g de cette microalgue pour la santé humaine. Notamment, selon l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), *A. platensis* contribue également à contrôler le taux de sucre dans le sang pour la santé glycémique (Seyidoglu et al., 2016).



Source : (<http://www.planete-spiruline.fr/la-spiruline/historique/>)

**Figure 01** : Le peuple Kanembou récolte la spiruline au bord du lac Tchad et la fait séché dans le sable au soleil.

### I.3. Classification taxonomique

La classification systématique de la spiruline a été étudiée par plusieurs auteurs. Considérer comme une algue à l'origine, Cependant, en 1960 une claire distinction entre procaryote et eucaryote a été définie, basée sur la différence d'organisation cellulaire : les procaryotes regroupent les organismes dépourvus de compartiment cellulaire tandis que les eucaryotes regroupent ceux qui possèdent des organelles. C'est à dire des nucléoles et des mitochondries (Durand, 1993). En 1962, Van et Stanier constataient que cette algue bleue verte était dépourvue de compartiments cellulaires, et donc faisait partie des procaryotes ; ils proposaient de désigner ce microorganisme « *Cyanobactérie* ». Une désignation finale en tant que cyanobactérie a été adopté et accepté par la suite pour figurer au « *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* » (Goulamabasse, 2018).

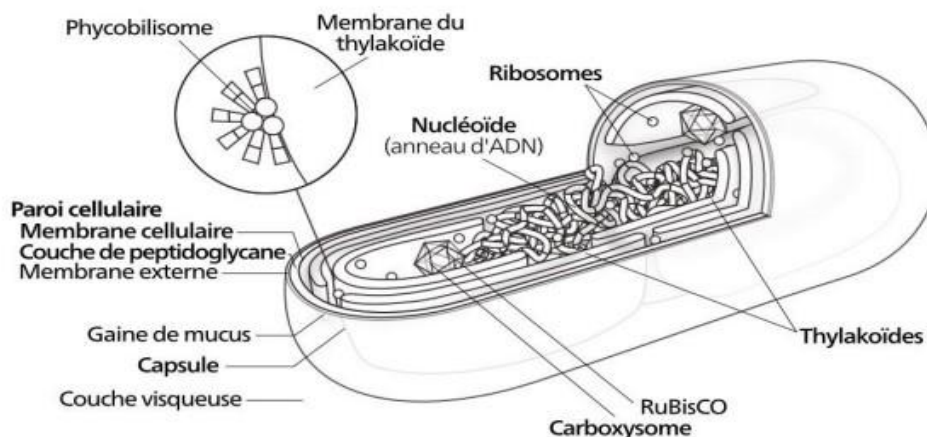
Les deux espèces les mieux connues sont *Arthrospira platensis*, originaire d'Afrique et *Arthrospira maxima* originaire d'Amérique centrale (tableau 01) (Lahoucine, 2019).

**Tableau 01** : Taxonomie récapitulative (Fox, 1999).

<b>Règne</b>	<b>Monera ou Bacteria</b>
<b>Sous-règne</b>	Prokaryota
<b>Phylum ou Division</b>	Cyanophyta ou Cyanobacteria
<b>Classe</b>	Cyanophyceae
<b>Ordre</b>	Oscillatoriales
<b>Famille</b>	Oscillatoriaceae
<b>Genre</b>	<i>Arthrospira</i>
<b>Espèce</b>	<i>Arthrospira platensis</i> et <i>Arthrospira maxima</i>

Les Cyanobactéries sont également appelées *Cyanophytes* ou *Cyanophycées*. Bien que connues sous le nom d'algues bleu-vert ou algues bleues, ces dernières sont des bactéries Gram-négatifs photosynthétiques. Leur existence date d'environ 3 milliards d'années et elles sont à l'origine de la production de l'oxygène que nous respirons sur terre. Elles sont capables d'assimiler l'azote de l'air. Elles ont ainsi permis la formation de la couche d'ozone qui nous protège contre les rayons nocifs du soleil (Lavoie et *al.*,2007).

Les cyanobactéries peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires (figure 02) : dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments composés de cellules alignées. Ces filaments sont appelés trichomes. Les Cyanobactéries sont de vrais procaryotes, des organismes dépourvus de membrane nucléaire malgré leur système photosynthétique proche de celui des eucaryotes (Goulambasse, 2018).

**Figure 02** : Schéma de la structure d'une cyanobactérie (Goulambasse, 2018).

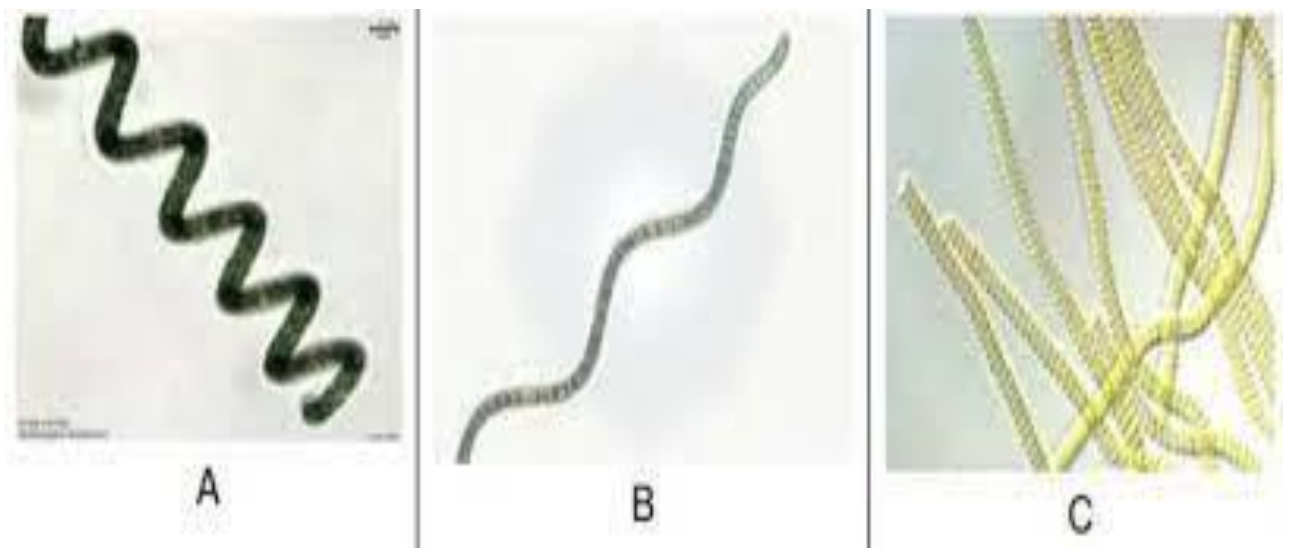
#### I.4.Morphologie

La spiruline a une morphologie très variable, selon la souche et les conditions de milieu de culture. Elle se compose de cellules végétatives présentant des parois facilement visibles, empilées bout à bout, appelées filaments ou trichomes (Seghir et *al.*, 2020).

Elle a une longueur moyenne de 250  $\mu\text{m}$  quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12  $\mu\text{m}$  de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, généralement en 6 ou 7 spires, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin. La largeur des trichomes, composée de cellules cylindriques plus courts que larges, varie d'environ 6 à 12  $\mu\text{m}$ . (Jarisoa, 2005). La forme hélicoïdale qui lui donne l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline » (Charpy et *al.*, 2008).

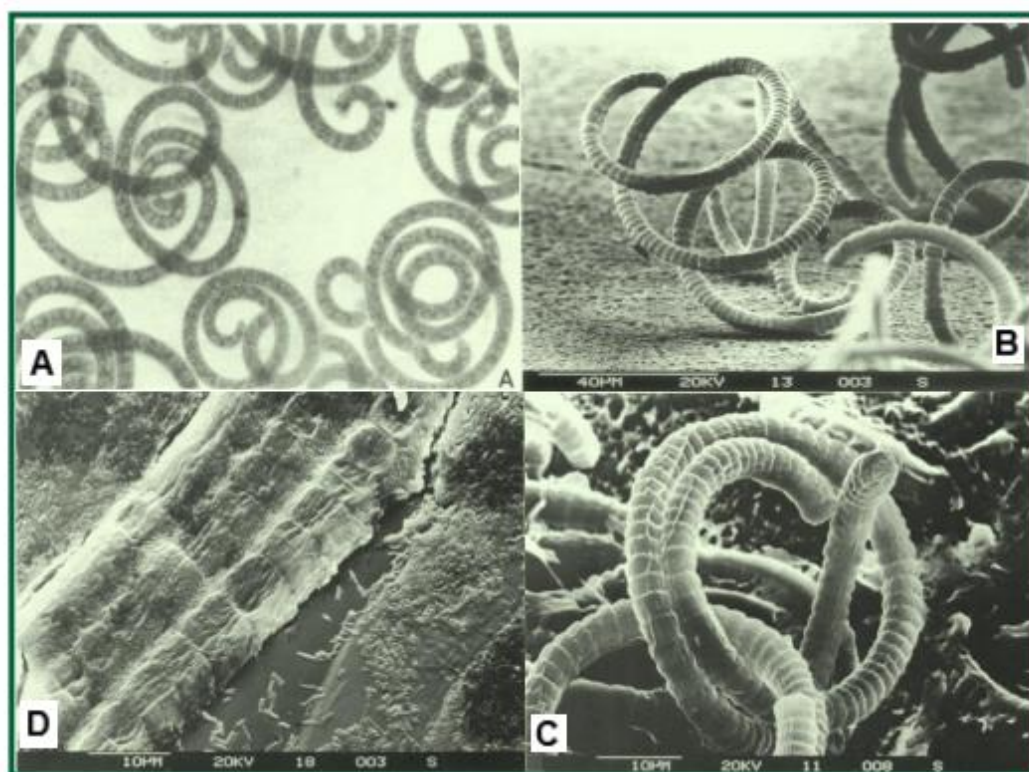
Le système pigmentaire photosynthétique de la spiruline est constitué de phycocyanine de couleur bleue, de chlorophylle et de caroténoïde. Certaines spirulines contiennent la phycoérythrine, un autre pigment donnant une couleur rouge ou rose à cette micro-algue (Hajati et Mojtaba, 2019).

Se présentant généralement sous différentes formes, les spirulines sont le plus souvent enroulées en spires, parfois ondulées ou de forme droite (Figure 03) Cette particularité de forme est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (Charpy et *al.*, 2008; Vicente, 2012).



(A) : Spirales, désigne les souches dont les filaments ont la forme du ressort. (B) : Ondulées, désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée. (C) : Droites, désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'il donne l'impression d'être presque rectiligne.

**Figure 03** : Les différents aspect de la spiruline (Goulambasse, 2018).



(A) Microscopie optique (X400) axénique. (B) Micrographie électronique à balayage d'un trichome. (C) Micrographie électronique à balayage d'une partie d'un trichome. (D) Micrographie électronique à balayage de trichomes non axéniques.

**Figure 04** : Morphologie de *A. Platensis* (Ciferri, 1983).

### 1.5. Répartition géographique

La plupart des spirulines se développent dans des eaux chaudes, alcalines et fortement minéralisées (richesses en nutriments azotés et phosphorés), excluant ainsi la plupart des autres microorganismes. Elle s'observe plus communément dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins des régions tropicales et semi tropicales (Goulamabasse, 2018).

On la retrouve ainsi dans les lacs alcalins en Afrique, en Amérique latine, et en Asie du sud (Figure 05). Il s'agit certes d'un organisme cosmopolite mais il est beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (Ahounou, 2018).

Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière laisse voir cet organisme pousser même dans des lacs volcaniques (lac Quiliotoa, en Equateur) et des endroits désertiques (région de Tamanrasset) aux points de ramassage d'eau provenant occasionnellement des montagnes (Elyah, 2003 ; Lahoucine, 2019).



**Figure 05** : Répartition géographique de la spiruline (Benoît, 2015).

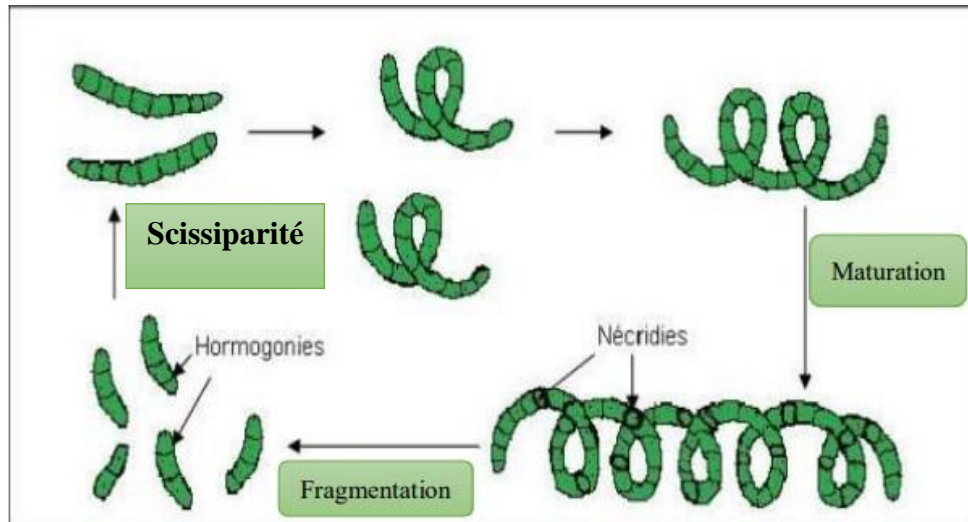
## I.6. Reproduction biologique

Le cycle biologique de la spiruline a été décrit par Balloni et ses collaborateurs en 1980 (Balloni et *al.*, 1980).

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours. Sa reproduction est végétative (asexuée) et s'effectue par scission simple, fission binaire ou multiple, par bourgeonnement ou fragmentation au hasard (Dargent, 2016).

A la maturité, la spiruline se reproduit suivant un mode végétatif asexué, la multiplication ne se produit que par fragmentation ; le trichome forme des cellules spéciales appelées nécriidies assimilées à des disques de séparation agissent comme des cellules spécialisées uniques (figure 06), permettant la rupture du trichome, au niveau desquelles le trichome est divisé en plusieurs parties pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies.

Les cellules d'hormogonie subissent des processus d'agrandissement et de maturation, chaque individu va donner deux individus par scissiparité, qui lui sont identiques génétiquement et plus ou moins morphologiquement et prendre la forme typique hélicoïdale (Théodore, 2017).



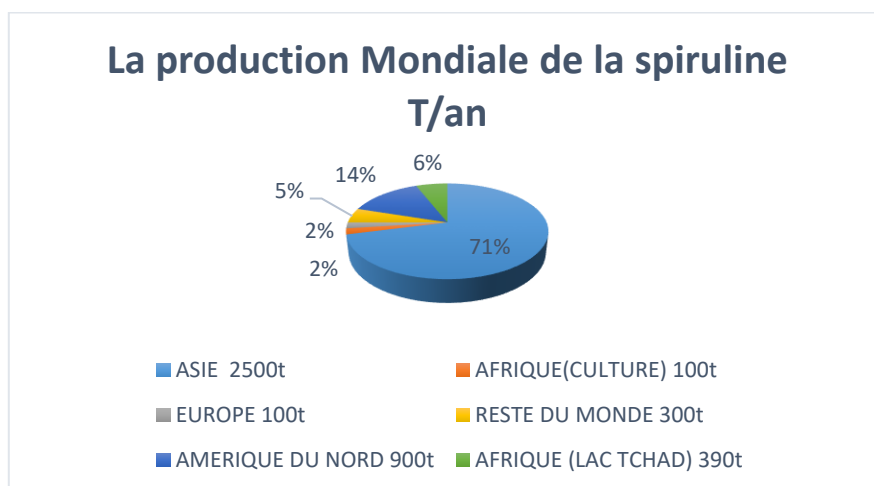
**Figure 06** : Cycle biologique de reproduction de la spiruline (Charpy et *al.*, 2008).

## I.7. Production de la spiruline

La culture de cette micro-algue ne nécessite ni traitement, ni cuisson, n'entraîne aucune pollution donc il est difficile d'obtenir des renseignements permettant de connaître la production mondiale actuelle et les coûts de la spiruline (Abdelhadi, 2017).

### I.7.1. Dans le monde

Cette micro-algue dont les bienfaits en matière de santé sont de plus en plus prisés par les consommateurs, explose. Les experts estiment ses perspectives de croissance à plus de 10% par an jusqu'à, au moins, 2025 pour atteindre 630 millions de dollars à cette date, avec une production d'environ 68.000 tonnes (Anonyme, 2021).



**Figure 07** : La production mondiale de la spiruline (Antenna, 2018).

Aujourd'hui. Les Etats-Unis détiennent 50% de la production mondiale. Deux pays seulement en Europe produisent de la spiruline ; il s'agit de la France et de la Hongrie. En Algérie.

### **I.7.2. En France**

Dans les années dernières années, le nombre de producteurs de spiruline a doublé et leur chiffre d'affaires a quadruplé. Cependant, la structure du marché français reste particulièrement originale relève l'étude : la production est fragmentée entre des petits producteurs de plus en plus nombreux (passés de 50 en 2013, à 133 en 2019) qui maillent le territoire français, et adressent un marché d'abord local. Premier constat : La spiruline française est surtout vendue en circuits courts – le e-commerce, la vente à la ferme, les marchés et les salons représentant 70% des ventes – ce qui assure des marges préservées aux producteurs. Un choix qui apparaît gagnant puisqu'entre 2014 et 2018 les surfaces cultivées ont doublé, et le chiffre d'affaires des producteurs a triplé pour atteindre plus de 6M€ en 2018 (anonyme,2022).

### **I.7.3. En Algérie**

La production de la Spiruline reste très faible en Algérie. A notre connaissance il existe quelques fermes de culture artisanale tel que :

- ✓ Tamanrasset : La ferme de M. Hiri
- ✓ Oran : La ferme de M. REDOUANE.
- ✓ Ghardaïa : Une ferme d'une capacité de production théorique de deux (2) tonnes/an, a-t-on auprès de la Direction régionale de la pêche et des ressources halieutiques (DPRH) à Ouargla.
- ✓ Bechar : vers la réalisation d'un projet de culture de la spiruline

### **I.8. Culture de la spiruline**

Outre le milieu de culture, La culture de la spiruline dépend de trois facteurs principaux, La température, la lumière et le pH. D'autres facteurs moins importants seront aussi à prendre en compte comme le Salinité et l'agitation du milieu

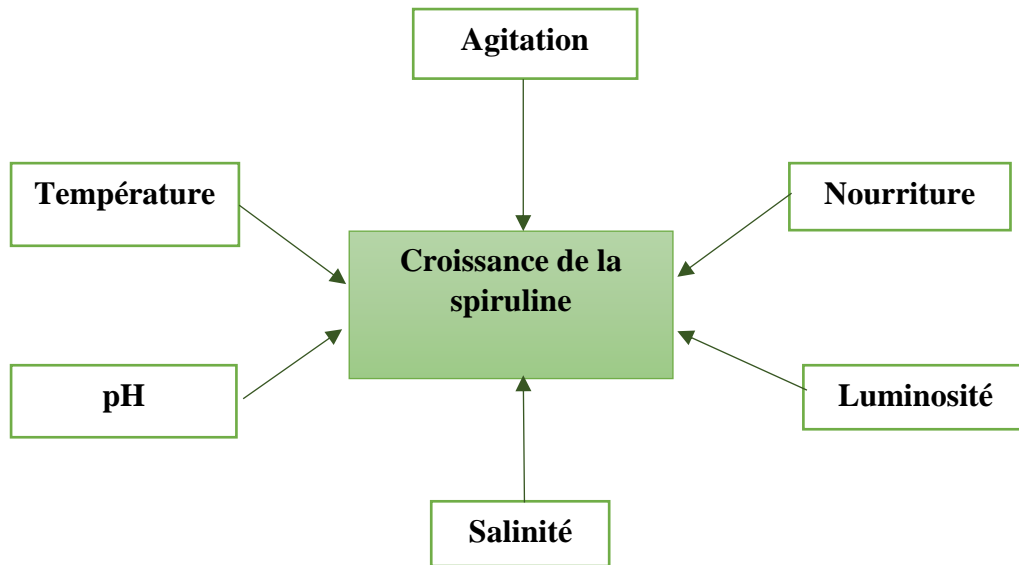


Figure 08 : Paramètres influencent la croissance de la spiruline.

### 1.8.1. Milieu de culture

Il s'agit d'une reproduction artificielle du milieu dans lequel la spiruline pousse de façon naturelle. C'est donc une solution natronée et alcaline constituée d'un mélange d'eau et de sels minéraux, qui apporte à la Spiruline tous les éléments chimiques qui lui sont nécessaires (Jourdan, 2012).

#### 8.1.1. L'eau

Les spirulines vivent dans l'eau saline et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. Le milieu très alcalin permet une meilleure absorption du gaz carbonique de l'air et une protection contre les contaminations (Jordan, 1999).

#### 8.1.2. Nourriture

Des engrais permettent d'assurer la croissance des spirulines : azote (N), phosphore (P), potassium (K) sont les trois éléments principaux mais Soufre (S), magnésium (Mg), calcium (Ca) et fer (Fe) doivent aussi être ajoutés s'ils ne sont pas en quantité nécessaire dans l'eau (Louvel, 2019).

#### 8.1.3. Température

La spiruline pousse idéalement lorsque la température du milieu de culture est de 37°C. Des températures supérieures à 40°C ne lui conviennent pas, et, elle meurt lorsqu'elle est exposée à 43°C. Par ailleurs, à 20°C, sa croissance est pratiquement nulle (Fox, 1999).

#### 8.1.4. Luminosité et agitation

Une intensité lumineuse élevée combinée avec une forte agitation permet la croissance optimale, tous les filaments reçoivent des charges lumineuses fréquentes et sont par la suite rapidement protégés d'une exposition trop longue par les autres filaments. En lumière et agitation faibles, la croissance est lente, mais la pigmentation est plus marquée, autrement dit, la couleur est d'un vert plus foncé et le bleu de la phycocyanine apparaît (Fox, 1999).

En diminuant l'éclairement on diminue aussi la photosynthèse totale, il faut ensemercer le bassin avec assez d'algues pour que la lumière ne puisse pas atteindre le fond du bassin ; et agiter suffisamment la culture pour que les filaments individuels ne restent pas plus d'une demi-minute à la surface en plein soleil, mais plongent et remontent fréquemment. Les roues à aubes constituent les systèmes d'agitation les plus utilisés ; le but est de remuer l'eau (Fox, 1999).

#### 8.1.5. pH

La culture de la Spiruline le pH sera entre un pH allant de 8.5 à 10.5 (Jourdan, 2012).

#### I.8.2. Récolte de la spiruline

les étapes nécessaires à la récolte de spiruline sont résumées dans la figure suivante (figure 09) selon « spiruline des îles d'or » : c'est une entreprise qui exploitait une des plus grandes fermes de Spiruline de France.

La première étape consiste à récolter sur un filtre l'eau de culture l'aide de pompes. La phase suivante consiste à rassembler la biomasse obtenue à l'aide d'une pelle en plastique et d'une petite raclette, suivie par l'essorage est une étape très importante dans la production de la Spiruline.

Elle va être roulée sur elle-même, placée dans le poussoir à saucisse en inox, adapté, et actionné par une manivelle, pour une extrusion en forme de « spaghettis ». la Spiruline va bien séchée et broyée manuellement jusqu'à l'obtention de paillettes.

Elle est stockée dans des sachets étanches, à l'abri de la lumière et de l'humidité (Figure 09)(Anonyme,2022).



Source :(<https://spiruline-des-iles-dor.com/>).

**Figure 09** : les étapes générales de la production de la spiruline.

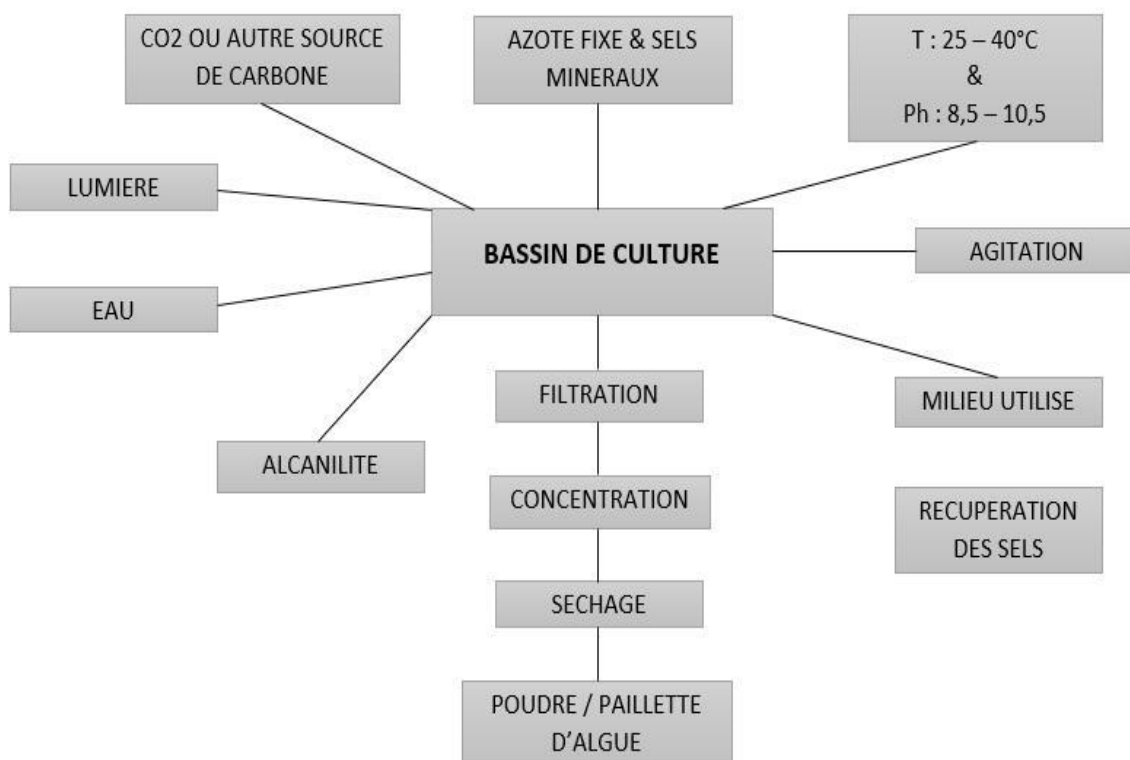
**I.8.3. Production artisanale**

Dans ce mode de culture, il existe des systèmes qui consomment moins d'énergie, avec des moyens peu coûteux, simples et efficaces en tant que mode de production artisanale.

Pour lancer une production artisanale de Spiruline selon Jourdan (2006), il faut de l'eau contenant des nutriments, du soleil et une température entre 25 et 40°C (figure 10).

Pour la mettre en place et en assurer le suivi, il faut avoir fait le bon choix du site et des matériaux de construction, disposer de quelques instruments de laboratoire (balance, loupe ou microscope), de quelques outils simples à réaliser, d'intrants (engrais) et d'une souche de spiruline robuste.

- Le choix du site doit tenir compte :
  - Du climat : l'exposition au soleil pour un maximum d'intensité lumineuse, la température (au-dessous de 20°C, la croissance est stoppée).
  - De l'accès à l'eau (cours d'eau, fleuves, puits, mer)
  - De la possibilité d'acheter les intrants
- Le choix d'un site pour l'implantation d'une ferme de spiruline en Afrique dépend en outre de la volonté et de la compétence d'un partenaire local et de l'acceptation par les populations locales.



**Figure 10** : Diagramme des flux pour la culture et la production de spiruline (Fox, 1999).

### I.8.3.1. Bassins de culture

Elle est cultivée en petits bassins en bâches plastique, en dur, ou en argile couvrant avec des planches en bois, films en plastique ou tout autre type de toits (parfois sous serres), permettant de le protéger contre l'excès de pluies, le vent de sable, les feuilles d'arbres...etc. Ils doivent être installés d'une manière facile à vider et à nettoyer avec un système d'agitation électrique ou manuelle par roue à aubes (Jordan, 1999).

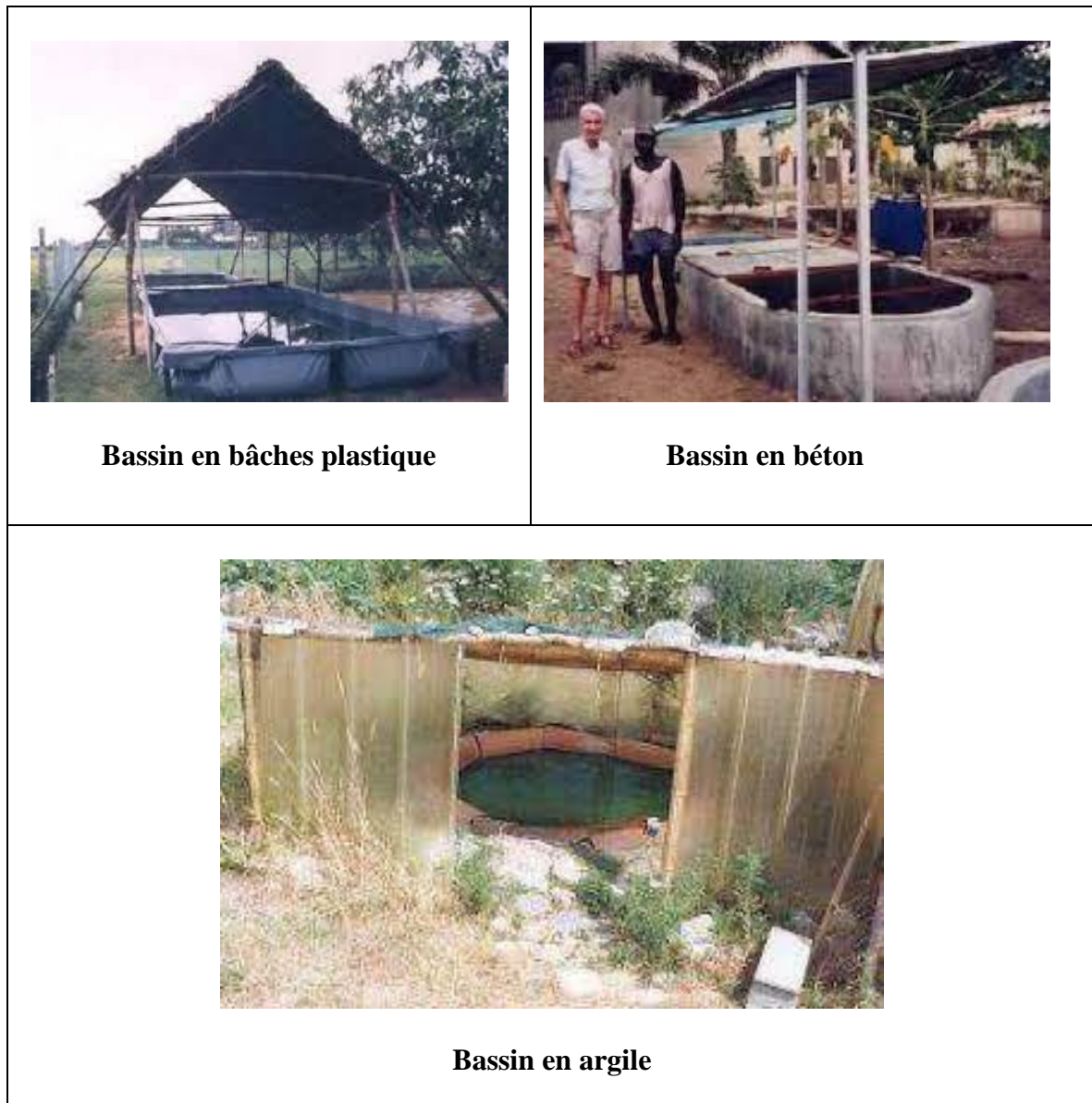


Figure 11 : Différents de bassins de culture (Jourdan, 2012).

### I.8.3.2. Récolte et extrusion

Après quelques semaines, la récolte commence. Un bassin peut être récolté tous les 2 ou 3 jours, pendant toute l'année. La biomasse humide est pressée ( Sguera, 2008).

La Spiruline fraîche ainsi obtenue peut-être consommée directement, ou séchée pour conservation (Charpy et *al.*, 2008).

Les spirulines récoltées doivent être concentrées avant d'être filtrées et lavées. L'opération de concentration consiste à envoyer la suspension de spiruline sur un filtre plan incliné et de recueillir une suspension très concentrée à la base. La filtration proprement dite est ensuite effectuée soit avec un filtre conventionnel ou avec un filtre horizontal muni d'un vide partiel. Les spirulines sont lavées sur le filtre afin d'éliminer les sels minéraux du milieu de culture (Dansou, 2002).

#### **I.8.3.4. Séchage et conditionnement**

Le séchage est effectué de manière classique par des rouleaux chauffants, par atomisation ou tout simplement par un séchage solaire. La spiruline séchée est alors broyée sous forme de poudre ou sous forme de paillettes et conservée dans un récipient étanche à l'abri de l'humidité et de la lumière. La spiruline peut être conditionnée dans des sachets, boîtes ou flacons sous formes de brindilles, de poudre, de gélules et de comprimés (Charpy et *al.*, 2008).

#### **I.8.4. Production Industrielle et semi-industrielle**

La production à grande échelle de la spiruline pour la culture de masse doit être réalisée dans des zones où les conditions climatiques sont favorables, il est difficile d'avoir une croissance idéale en raison de différents facteurs environnementaux, en particulier la température et le soleil tout au long de l'année (Usharani et *al.*, 2012).

La production industrielle est principalement commercialisée en tant que complément alimentaire "de confort". Les installations industrielles de production de spiruline sont pensées par rapport à un ensemble de normes sanitaires et des conditions environnementales très saines : la qualité de l'eau, de l'air et de la nourriture.

Les technologies utilisées pour la culture industrielle sont issues de la recherche scientifique, dans le but de maximiser les rendements de production durant toute l'année même dans des climats tempérés qui sont trop froids pour envisager des cultures en plein air, les chercheurs ont étudié, durant ces 20 dernières années, d'autres systèmes, et en particulier la production en photobioréacteurs.

De plus, la surface unitaire et la surface totale des bassins de culture sont nettement plus importantes dans le cadre des grosses exploitations industrielles, par rapport aux exploitations artisanales. Concernant l'agitation du milieu de culture, du fait de la forme des

bassins industriels, le brassage s'effectue toujours mécaniquement, grâce à de grandes roues à aubes. Le séchage industriel se fait par pulvérisation dans l'air chaud (spray-drying=atomisation), principale méthode actuel (Cruchot, 2008).

## *CHAPITRE II*

### *Composition et propriétés de la Spiruline*

## II. Composition et propriétés de la Spiruline

### II.1. Composition de la spiruline

La Spiruline est l'aliment nutritif le plus riche. Elle est connue comme « l'aliment parfait de la nature ». Notre corps est un organisme complexe ; pour son maintien en forme, nous devons lui fournir les éléments nutritifs, l'énergie et la vitalité dont il a besoin, et donc la spiruline peut satisfaire ses besoins (Goulamabasse, 2018).

Il existe de fortes variations en ce qui concerne la composition de la spiruline. Ces divergences sont liées à plusieurs facteurs. L'existence de différentes souches de spirulines, l'origine géographique, les conditions de production (les éléments chimiques entrant dans la composition du milieu de culture, les techniques de séchage, de broyage, de récolte (Ahounou, 2018), mais aussi par le taux d'ensoleillement et par le fait que certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras.

Selon Casal (2019), La spiruline séchée contient en moyenne (figure 12):

- 60 à 65% de protéines : Contient les 8 acides aminés essentiels (leucine, isoleucine, valine, phénylalanine, méthionine, tryptophane, thréonine et lysine) + les acides aminés non essentiels (cystine, glycine, alanine, acide aspartique, acide glutamique, arginine, histidine, proline, sérine...)
- 15 à 20 % de glucides
- 5 à 6% de lipides
- 7 à 10% de minéraux : fer et magnésium surtout
- 2 à 5% de fibres
- Pigments
- 5% d'eau

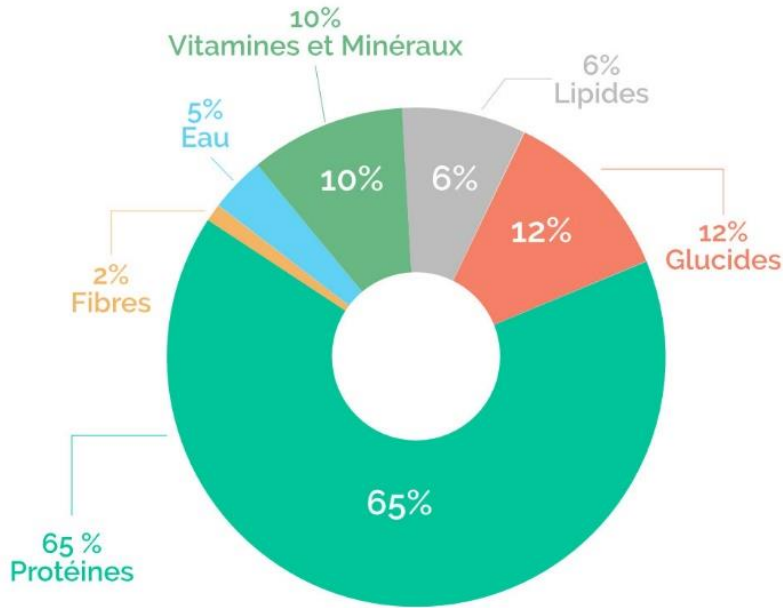


Figure 12 : Les valeurs nutritionnelles moyennes de la spiruline (Casal, 2019).

En effet, la spiruline apporte plus de protéines que la viande rouge et plus de caroténoïdes que les carottes (figure 13).



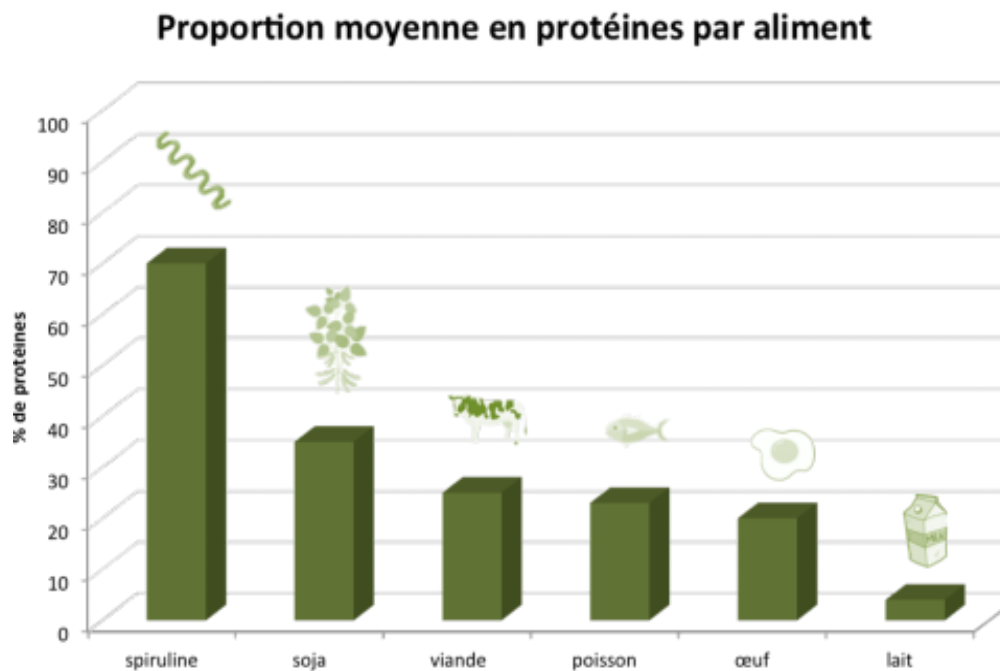
Source : (<https://www.laspirulinedesvikings.fr/les-bienfaits-de-la-spiruline/>, n.d.)

Figure 13 : Les bienfaits de la spiruline.

### II.1.1. Protéines et acides aminés de la spiruline

Les protéines sont les molécules organiques les plus abondantes dans le corps humain, elles sont responsables de chaque processus qui se produit dans le corps, ces macromolécules peuvent être sous forme d'enzymes, d'anticorps d'hormones, récepteurs ...etc.

La spiruline est un aliment très riche par sa composition protéique (figure 14), elle contient la plupart des acides aminés et notamment tous les acides aminés essentiels constituant près de 60% du poids total des protéines (Louvel, 2019).



**Figure 14 :** Diagramme de comparaison du taux de protéines de la spiruline par rapport à d'autres aliments (Benoît, 2015).

#### a. Teneur en acides aminés

Plusieurs études ont montré que la spiruline contient des acides aminés essentiels dans les proportions recommandées par la FAO (*Food and Agriculture Organization*) pouvant être comparées à des normes de protéines telles que la viande, les œufs ou le lait, et avec une qualité supérieure à celles des protéines végétales (Ahounou, 2018).

Les vingt acides aminés sont utilisés par l'organisme pour constituer des protéines, parmi ces vingt, le corps étant capable d'en fabriquer douze, les huit autres étant essentiels (tableau 02) et doivent être apportés par l'alimentation (Seghir, 2020).

Selon les valeurs de référence de l'OMS ou de la FAO le profil des acides aminés de la spiruline est considéré comme ayant une « valeur biologique élevée » (Martínez-Galero et al., 2016).

**Tableau 02** : Teneur de la spiruline en acide aminés (Ahounou, 2018).

Acides Aminés Essentiels	Teneur moyenne dans 10g de spiruline
Isoleucine	350 mg (50% des AJR)
Leucine	540 mg (49% des AJR)
Lysine	290 mg (36% des AJR)
Méthionine	140 mg (23% des AJR)
Phénylalanine	280 mg (140% des AJR)
Thréonine	320 mg (64% des AJR)
Tryptophane	100 mg (48% des AJR)
Valine	400 mg (44% des AJR)
Alanine	470 mg
Arginine	430 mg
Acide aspartique	610 mg
Cystine	60 mg
Acide glutamique	910 mg
Glycine	320 mg
Histidine	100 mg
Proline	270 mg
Tyrosine	300 mg
Sérine	320 mg

**AJR** : Apports journaliers recommandés.

Les acides aminés soufrés, la méthionine et la cystéine, ainsi que la lysine, sont certes plus faiblement représentés (Falquet et Hurni, 1986; Charpy et *al.*, 2008). Mais il est important de noter la présence de méthionine, absente chez la plupart des autres microalgues » (Ahounou, 2018).

La composition en acide aminés de la spiruline soit optimale, pour devenir une source alimentaire de premier choix, il est nécessaire que ces protéines soient assimilables par l'organisme. Cette caractéristique est déterminée par le calcul du coefficient d'efficacité protéique (PER : Protein Efficiency Ratio)(Ahounou, 2018; Bedra et Bettayab, 2021).

L'utilisation de la protéine consommée est déterminée par la digestibilité, c'est-à-dire la proportion d'azote protéique réellement absorbée par l'individu. Contrairement à d'autres micro-organismes proposés comme source de protéines (levures, chlorelles...), la spiruline ne possède pas de paroi cellulosique ; elle a donc l'énorme avantage d'être parfaitement digestible sans cuisson ni autre traitement destiné à rendre ses protéines accessibles. Leur digestibilité est évaluée à 83 %. La valeur de l'utilisation protéique nette (NPU) est estimée entre 53 et 61 % (Falquet et Hurni, 2006).

### **b. La phycocyanine**

La C-phycocyanine (C-PC) est un pigment bleu et la substance commercialement la plus prometteuse trouvée dans la spiruline (Liang, et *al.*, 2004; Iyer et *al.*, 2007). C'est une phycobiliprotéine hydrosoluble (PBP) et un pigment accessoire photosynthétique (Eriksen, 2008). Sa fonction principale est de collecter et de transférer l'énergie lumineuse de la chlorophylle lorsque la chlorophylle est peu absorbée et transférée (Bennett et Bogorad, 1973; Zilinskas et Greenwald, 1986; Grossman et *al.*, 1994).

Cette protéine complexe hydrosoluble, est présente à une hauteur de 150 g/kg de spiruline sèche. La phycocyanine est spécifique aux cyanobactéries puisqu'on ne la trouve nulle part ailleurs dans la nature. Elle est apparue un milliard d'années avant la chlorophylle, et peut être considérée comme un précurseur de l'hémoglobine et de la chlorophylle dans la mesure où son noyau renferme à la fois un ion fer et un ion magnésium (Baadi et Menadi, 2014)

La phycocyanine est extraite de la spiruline sous forme liquide. Elle est concentrée et plus biodisponible sous cette forme, mais aussi très facile et agréable à consommer ainsi. Le corps en absorbe aisément et rapidement tous les bienfaits. La spiruline classique, elle, est consommée dans sa forme sèche, en comprimés ou en paillettes.

La phycocyanine qu'elle contient n'y est alors que peu concentrée, dégradée par le séchage et moins biodisponible. (performe, 2020).

Selon Caroline (2019), les rôles de la phycocyanine ne sont pas encore parfaitement connus du monde scientifique. Cependant, par recoupement entre les actions de la spiruline et celles des antioxydants, les scientifiques s'accordent à dire que les rôles de la phycocyanine seraient multiples : Le C-PC sert à stocker l'azote et est sélectivement dégradé lorsque les cellules sont privées d'azote (Grossman et *al.*, 2001; Sloth et *al.*, 2006). C-PC a été principalement utilisé comme un ingrédient nutritionnel, un marqueur fluorescent ou comme

un colorant naturel dans les aliments ou les cosmétiques et est également connu pour être antioxydant, anti-inflammatoire, antiplaquettaire, anticancéreux, antifongique et antiviral dans la nature. Il a également des propriétés néphroprotectrices et hépatoprotectrices (Eriksen, 2008).

De plus, les phycobiliprotéines n'ont pas encore été revues dans la littérature (Manirafasha et al., 2016; Stadnichuk et Tropin, 2017). Parmi ses nombreuses bioactivités, la fonction antioxydante de C-PC peut avoir le plus de valeur. En fait, il peut protéger la cellule vivante du stress oxydatif en retardant ou en inhibant l'oxydation des lipides (Chadwick et al., 2003). Les données probantes tirées des traitements médicaux ont révélé que l'ingestion de constituants alimentaires antioxydants peuvent maintenir un équilibre entre le système antioxydant et la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Chadwick et al., 2003; Samaranyaka et Li-Chan, 2011). Ainsi, le corps humain peut combattre diverses maladies telles que l'athérosclérose, l'Alzheimer, le cancer, le diabète sucré, l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires et le processus de vieillissement (Wu et al., 2005; Durackova, 2010).

La phycocyanine est soluble dans l'eau mais insoluble dans l'éthanol. Ce pigment bleu peut facilement et magnifiquement être observable à l'œil nu en solution aqueuse (Anonyme1).

Toutes les phycobiliprotéines sont solubles dans l'eau et ne peuvent donc pas exister dans la membrane, contrairement aux caroténoïdes (Naturalfield, 2017).

La phycocyanine a une solubilité maximale à pH 6 et est instable dans la plage de pH alcalin, où la majorité des autres protéines sont les plus solubles. Les protéines *d'A.platensis* sont également très solubles à pH 6 et solubles au maximum à pH 10. Par conséquent, le pH optimal d'extraction est de 6 (Idakiev et Baecker, 2018).

### II.1.2. Lipides

Outre leur rôle énergétique évident, les lipides présentent également un rôle structural contribuant au maintien de l'architecture cellulaire. La composition en lipides totaux de la spiruline se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés. La composition des principaux acides gras révèle la présence d'une forte concentration en acides gras essentiels, incluant des oméga-3 et des oméga-6 qui préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme (Hug et Denis von der, 2011).

Ces lipides totaux peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83%) et une fraction insaponifiable (17%), contenant essentiellement des paraffines, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (Clement, 1975).

### II.1.2.1. Acides gras (Fraction saponifiable)

La teneur en acides gras de la spiruline (tableau 03) est comprise entre 4,9 à 5,7% de la matière sèche. Elle varie essentiellement suivant le milieu de culture (Colla et *al.*, 2004).

**Tableau 03** : principaux acides gras de la spiruline (Falquet et Hurni, 2006).

Acides gras	% des acides gras totaux
<b>Palmitique (16:0)</b>	25-60%
<b>Stéarique (18:0)</b>	0.5-2%
<b>Palmitoléique (16:1) oméga-6</b>	0.5-10%
<b>Oléique (18:1) oméga-6</b>	5-16%
<b>Linoléique (18:2) oméga-6</b>	10-30%
<b><math>\gamma</math> -linoléique (18:3) oméga-6</b>	8-40%

La Spiruline est considérée comme l'une des meilleures sources alimentaires connues d'acide  $\gamma$ -linoléique, après le lait humain et quelques huiles végétales peu courantes, fort chères et non chauffées (huiles d'onagre, de bourrache, de pépin de cassis et de chanvre) (Cruchot, 2008).

On note l'absence d'acide gras oméga 3 qui pourrait être compensé par l'apport de l'huile de noix, de colza et des poissons qui sont riche en oméga 3.

Cette fraction saponifiable se compose aussi de plusieurs di-glycérides, de phosphatidylglycérol, et d'autres phospholipides indéfinis. Les triglycérides, la phosphatidylcholine, la phosphatidyléthanolamine et le phosphatidyl-inositol quand ils sont présents, ne le sont qu'en très faible quantité (Charpy et *al.*, 2008).

### II.1.2.2. Fraction insaponifiable

La fraction insaponifiable de la spiruline représente 1,1 à 1,3% de la matière sèche et environ 13% de la fraction lipidique totale. Elle est constituée de stérols, de terpènes, de paraffines, et de pigments (Falquet et Hurni, 2006; Charpy et *al.*, 2008).

La quantité de stérols (dont le cholestérol) retrouvée dans la spiruline est très faible, variant entre 0 à 0,015% de son poids sec. Les alcools terpéniques représentent 5 à 10% de l'insaponifiable.

Enfin, les hydrocarbures saturés (paraffines) représentent entre 0,1 et 0,3% de la spiruline sèche, avec majoritairement du n-heptadécane pouvant dans certaines conditions être toxique (notons qu'on en retrouve dans certaines levures alimentaires à hauteur de 0,1 à 0,5%) (Charpy et *al.*, 2008).

### II.1.3. Glucide

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des spirulines (Ciferri, 1983; Falquet et Hurni, 2006), et sont principalement apportés sous forme de glycogène et de rhamnose. Le glucose, le fructose, le saccharose et les quelques polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol, ne sont présents qu'en très faibles quantités. (Niangoran N'goran, 2017).

Les sucres simples et les polyols ne sont présents qu'en très petites quantités. Les glucides digestibles sont représentés par du rhamnosane et du glucosane aminés, respectivement environ 2% et 10%. On note aussi la présence de glycogène (0,5%) (Babadzhanov et *al.*, 2004; Toudert et Bouzidi, 2020).

### II.1.4. Acides nucléiques

On rapporte des valeurs de 4,2 à 6 % d'acides nucléiques totaux (30% ADN et 70% ARN) dans la matière sèche chez *A. platensis*. La teneur en acides nucléiques de *Arthrospira* est très inférieure à celle de la généralité des unicellulaires (Ciferri, 1983; Sguera, 2008).

### II.1.5. Vitamines

La Spiruline contient une large gamme de vitamines (**Tableau 04**), qui contribuent au bon fonctionnement de notre organisme.

**Tableau 04 :** Teneur de la spiruline en vitamines en comparaison avec les besoins journaliers des vitamines (Falquet, 1996).

<b>Vitamine</b>	<b>Teneur (mg/kg)</b>	<b>Besoin/jour (adulte)</b>
<b>Thiamine (B1)</b>	34-50	1.5 mg
<b>Riboflavine (B2)</b>	30-46	1.8 mg
<b>Pyridoxine (B6)</b>	5-8	2.0 mg
<b>Cyanocobalamine (B12)</b>	1.5 - 2.0	0.003 mg
<b>Niacine</b>	130	20 mg
<b>Folate</b>	0.5	0.4 mg
<b>Panthoténate</b>	4.6 – 25	6 - 10 mg
<b>Biotine</b>	0.05	0.1 - 0.3 mg
<b>Acide ascorbique (C)</b>	Traces	5 - 30 mg

### II.1.5.1. Vitamines hydrosolubles

Les vitamines hydrosolubles présentes dans la spiruline sont principalement les vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12) : elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière. Elle est riche aussi en vitamine B2. Les vitamines du groupe B sont des cofacteurs impliqués dans tous les métabolismes, la synthèse des hormones et des enzymes, la transmission de l'influx nerveux, la production d'énergie, le système immunitaire.

En outre, il faut souligner la teneur exceptionnelle en vitamine B12 (cobalamine) qui est de loin la vitamine la plus difficile à obtenir dans un régime sans viande car aucun végétal courant n'en contient. *Arthrospira* en est quatre fois plus riche que le foie cru, longtemps donné comme meilleure source. Il faut pourtant noter qu'il existe une controverse à propos de la biodisponibilité réelle du complexe B12 de *Arthrospira* (Harriman et al., 1996).

Selon la provenance de la spiruline, la vitamine C est soit absente soit en quantité négligeable (Louvel, 2019).

### II.1.5.2. Les vitamines liposolubles

Les vitamines A, D, E et K sont stockées dans les tissus adipeux et le foie. Elles présentent un risque de surdosage et donc de toxicité du fait de la capacité de l'organisme à les accumuler.

#### ➤ **β-carotène (provitamine A)**

Le β-carotène représente 80% des caroténoïdes présents dans *Arthrospira*, le reste étant composé principalement de physoxanthine et de cryptoxanthine (Palla et Busson, 1969). On trouve entre 700 et 1700 mg de β-carotène et environ 100 mg de cryptoxanthine par kilo de spiruline sèche. Le β carotène, précurseur de la vitamine A, joue un rôle essentiel dans la vision, la reproduction des cellules et le fonctionnement normal du système immunitaire.

#### ➤ **Tocophérols (Vitamine E)**

La teneur en vitamine E de la spiruline présente une forte variabilité liée probablement à des qualités de spiruline différentes, avec une moyenne de 50 à 190 mg/Kg de masse sèche, ce qui est comparable à celle de graine de blé considéré comme la référence sur le plan de l'apport en cette vitamine, Elle agit comme un antioxydant essentiel dans la protection des membranes cellulaires (Cruchot, 2008).

### II.1.6. Pigments

La Spiruline, cette algue qu'on dit bleue mais que nous voyons verte et qui donne aux plumes des flamants leur couleur rose, contient toutes sortes de pigments (tableau 05). Elle contient des chlorophylles dont la chlorophylle a (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le β-carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine. (Pierlovisi, 2007).

**Tableau 05 :** Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de *Arthrospira platensis* (Pierlovisi, 2007).

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

Les trois principaux pigments, contenus dans la spiruline, responsables de sa couleur sont la chlorophylle, la phycocyanine et la  $\beta$  carotène ( Sguera, 2008) :

### II.1.6.1. La chlorophylle

La chlorophylle est présente dans la spiruline à 1 % du poids sec, pigment responsable de sa coloration verte. Lorsque les plantes l'utilisent pour la photosynthèse, elle permet au corps humain de capter le magnésium organique nécessaire au maintien de l'équilibre acido-basique. Sa structure moléculaire ressemble à l'hémoglobine mais la molécule centrale est le magnésium et non le fer (Manet, 2016).

De plus la chlorophylle s'associe à un cofacteur, la porphyrine (composant également présent dans la spiruline), pour chélater les métaux lourds, mercure, plomb, arsenic, ou nickel et les éliminer de l'organisme. La chlorophylle augmente le péristaltisme et soulage ainsi la constipation, elle normalise également la sécrétion digestive acide et la pepsine responsable d'ulcères digestifs. Cependant la chlorophylle est détruite à haute température d'où l'importance d'un séchage de la spiruline à basse température (Manet, 2016).

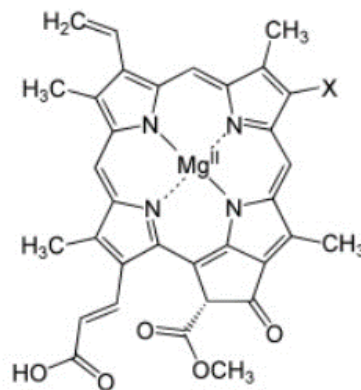


Figure 15 : Structure chimique de la chlorophylle (Goulambasse, 2018).

### II.1.6.2. Phycocyanine

La phycocyanine est un pigment de nature protéique hydrosoluble, de couleur bleue appartenant à la famille des phycobiliprotéines, se trouvant chez les cyanobactéries telle que la spiruline. Elle est responsable de sa couleur bleu-vert caractéristique. C'est ce qui explique son nom, tiré du grec « phyco » (qui signifie « algue ») et « cyan » (qui signifie « bleu »). Peu d'aliments contiennent de la phycocyanine hormis la spiruline.

On compte le klamath, une microalgue des États-Unis, et le Moringa (Perez, 2021). C'est un pigment accessoire à la chlorophylle qui capte environ 50% de la lumière photosynthétique (Romay et al. 2003).

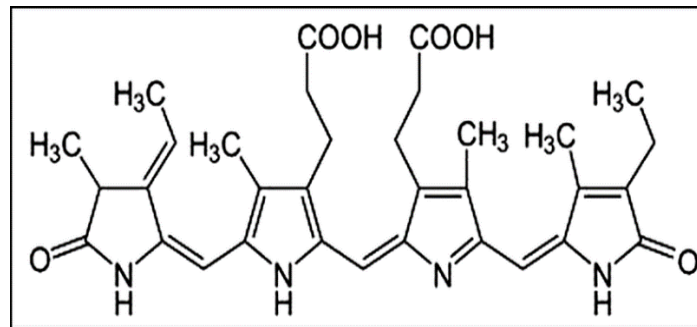


Figure 16 : Structure chimique de la phycocyanine (Hoseini et *al.*, 2013).

### II.1.6.3. La Bêta-carotène :

La bêta-carotène, pigment orange, précurseur de la vitamine A, est aussi présent dans la spiruline en grande quantité, joue un rôle important dans le renouvellement des cellules et dans les défenses immunitaires (Charpy et *al.*, 2008).

### II.1.7. Minéraux et oligoéléments

Les minéraux et les oligoéléments sont des composés inorganiques nécessaires à l'organisme. Une différence quantitative réside néanmoins entre les deux groupes. En effet, les minéraux se trouvent en quantité importante dans l'organisme tandis que les oligoéléments n'y sont présents qu'à l'état de traces.

Les minéraux particulièrement intéressants de la spiruline sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium, le Tableau suivant présenter la composition en minéraux de la spiruline (Falquet, 1996).

**Tableau 06** : Teneur moyenne des minéraux (Falquet, 1996).

<b>Minéraux</b>	<b>Teneur de la spiruline (mg/100g)</b>	<b>Doses requises (mg/jour)</b>
<b>Calcium</b>	130-1400	1200
<b>Phosphore</b>	670-900	1000
<b>Magnésium</b>	200-400	250-350
<b>Fer</b>	60-600*	18
<b>Zinc</b>	2.1-600*	15
<b>Cuivre</b>	0.8-200*	1.5-3
<b>Chrome</b>	0.28	0.5-2
<b>Manganèse</b>	2.5-3.7	5
<b>Sodium</b>	450	500
<b>Potassium</b>	640-1540	3500
<b>Sélénium</b>	0.001-5*	0.05

\* enrichissements spécifiques.

### II.1.8. Métaux lourds

La spiruline est un puissant chélateur de métaux lourds, il est donc important de vérifier la provenance de l'algue, de doser les taux de métaux lourds, et de vérifier que l'eau de culture ne soit pas contaminée. Il faut donc mettre en place des systèmes de traçabilité pour s'assurer que de la spiruline provenant de tout horizon soit exempte de toute toxicité ( Sguera, 2008).

Les métaux lourds peuvent être définis comme un groupe de quarante éléments naturels qui ont un poids atomique élevé et une densité à au moins 5 fois supérieure à celle de l'eau. Ils sont dits dangereux en raison de leur toxicité même à faibles concentrations. Les contaminants de métaux lourds les plus courants sont le mercure (Hg), l'arsenic, le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le chrome (Cr), le zinc (Zn) et le cuivre (Cu). En outre, Ils sont non biodégradables donc, ils restent dans l'environnement et les systèmes biologiques (Huët et Daneshwar, 2017).

On peut classer les métaux lourds par leur degré de toxicité en :

- Les éléments relativement peu toxiques ou rarement toxiques quel que soit leurs mobilités et leurs solubilités sont l'aluminium, le calcium, magnésium etc....
- Les éléments toxiques mais relativement mobiles sont le cadmium, mercure, cuivre, nickel, zinc, chrome, etc....
- Les éléments toxiques mais souvent peu solubles sont le titane, baryum, tungstène...

Cette mobilité et solubilité peuvent être différentes selon le milieu considéré. La facilité de transfert dans la phase aqueuse de ces éléments de traces métalliques est déterminée par ordre de leur mobilité. Ainsi, on a : Ni > Zn > Cd > Cr > Pb > Cu (Amuzu et al., 1994).

## II.2. Utilisation de la spiruline

La spiruline a été utilisée dans plusieurs domaines :

### II.2.1. En santé humaine

*Arthrospira platensis* de par sa composition riche et variée, est incomparable. Jusqu'à tout récemment, l'intérêt pour la spiruline portait uniquement sur sa qualité nutritive. Cependant, à l'heure actuelle, bon nombre de chercheurs étudient les effets thérapeutiques possibles de ce microorganisme.

Quelques études cliniques montrent les effets bénéfiques de la spiruline telle que la réduction du cholestérol et des cancers par la stimulation du système immunitaire, l'augmentation des lactobacilles de la flore intestinale, la réduction de la toxicité des reins dueaux métaux lourds et les drogues ainsi que la protection contre les radiations (Darcas, 2004).

#### ➤ La lutte contre la mal nutrition

Selon le rapport de la FAO (30/10/2006), la malnutrition touche plus de 30% de la population mondiale, et selon l'OMS et l'UNICEF, un (01) sur trois (03) en Afrique et un (01) sur cinq (05) en Asie souffrent de malnutrition. Par sa facilité de culture, sa capacité de récolte, son équilibre nutritionnel, la spiruline pourrait constituer une solution efficace aux problèmes de la malnutrition.

#### ➤ Stimulation du système immunitaire

Plusieurs expériences positives ont été réalisées sur les animaux montrent que la spiruline régulerait favorablement le système immunitaire en augmentant l'activation des macrophages et les cellules naturellement destructrices (NK) (Belay et al, 2007; Parikh et al., 2001).

La spiruline est dotée d'une activité anticoagulante liée au Spirulane Calcique (Sp-Ca) et au Spirulane Sodique (Sp-Na) (Parikh et al., 2001) ; d'une activité anti-inflammatoire sur les articulations (Remirez et al., 2002) .

➤ **Activité antioxydante**

Les principaux actifs antioxydants qui confèrent un statut indétrônable d'antioxydant puissant à la spiruline sont : la phycocyanine, la bêta carotène, les polyphénols, la super oxyde dismutase (SOD) et d'autres vitamines et minéraux contenus dans cette matière. De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont identifié cette activité potentielle de la spiruline (ou de ses extraits) et ont montré que le traitement à la spiruline réduit significativement le stress oxydatif (Goulambasse, 2018).

➤ **Activité antimicrobienne**

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

Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance anti-bactérienne particulière mais un spectre d'action qui serait un support pour démontrer le potentiel de cette activité sur quelques germes pathogènes (Kuashik et Chauhan, 2008; Mehrez, 2021).

➤ **Activité antivirale**

La richesse de la spiruline en  $\beta$ -carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établies comme substances intéressantes dans la lutte contre les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline.

Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (Andreani, 2011).

L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité *in vitro* des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalo virus humain (CMV) et le VIH-1 (Yougbaré, 2007; Lahoucine, 2019).

➤ **Activité anticancéreuse**

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 (Vidal, 2015).

La spiruline présente une activité anti tumorale liée à la phycocyanine (Parikh et al., 2001).

➤ **Activité anti-hypercholestérolémiant**

La spiruline agit en raison de sa teneur en diverses vitamines, fer et en phycocyanine au transport de l'oxygène dans le sang. La spiruline réduit le taux de sucre dans le sang et va donc influencer la pression artérielle. Il s'agit du phénomène d'athérosclérose initié avec les radicaux libres et oxydant le HDL. Le LDL va donc se fixer sur les parois des vaisseaux sanguins avec plus ou moins présence de fibrome favorisant les troubles cardio-vasculaires. (Parikh et al., 2001).

La richesse de la composition de la spiruline lui procure un effet hypolipémiant : la phycocyanine augmente la réabsorption des acides biliaires au niveau de l'iléon, les caroténoïdes, l'acide  $\gamma$ -linoléique, les fibres et stérols font diminuer l'absorption jéjunale et iléale du cholestérol et inhibent l'expression de la HMG-CoA Réductase (3- hydroxyle 3-methylglutaryl CoA Réductase) hépatique, enzyme responsable de la biosynthèse du cholestérol (Louvel, 2019).

Les acides gras essentiels abaissent le taux de cholestérol, diminuent la formation de la plaque d'athérome et le risque d'infarctus. Ils augmentent la flexibilité des membranes. L'acide  $\gamma$ -linoléique, précurseur des prostaglandines dont la PGE1, régule la tension artérielle et le ralentissement de la production de cholestérol. De plus, la spiruline contient de la vitamine PP encore appelée acide nicotinique qui est une vitamine hypocholestérolémiant (Parikh et al., 2001 ; Mazokopakis et al., 2014).

➤ **Autres effets**

D'innombrables autres effets bénéfiques sont également rapportés pour la spiruline. D'après Takai et al. (1991), la fraction soluble dans l'eau de la spiruline a la propriété de

diminuer le taux de glucose dans le sérum. Par ailleurs, Becker et *al.* ont montré en 1986 qu'une supplémentation en spiruline de 2,8 g 3 fois par jour pendant 4 semaines entraînait une réduction du poids corporel chez les obèses. Elle améliore aussi les capacités sportives : par ses teneurs en fer, en vitamine B<sub>12</sub>, et en  $\beta$ -carotène qui faciliteraient la récupération (Parikh et *al.*, 2001).

De plus, Iwata et *al.* (1990) ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats, suite à un apport de spiruline. Une hépatoprotection a été signalée et un effet possible de la molécule Spirulane-sodique dans la prévention de l'athérosclérose (Yamamoto et *al.*, 2006 ; Chine et Kouici, 2017).

Cheng-Wu et *al.*, ont observé que la phycocyanine et les polysaccharides de la spiruline possédaient une activité érythropoïétique (Belay, 2002).

### II.2.2. En alimentation animale

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

Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline est couramment utilisée. Chez les chevaux, sa consommation est très courante pendant la phase de croissance, de compétition ou de convalescence. Notons aussi que les bons éleveurs de poules n'hésitent pas à ajouter de la spiruline à leur alimentation. C'est une pratique de connaisseur qui participe à la ponte d'œuf d'une qualité nettement supérieure (Casal, 2019).

L'influence bénéfique sur la croissance de l'incorporation des spirulines dans la nourriture des poulets de chair a été prouvée (Blanchot, 2008).

La spiruline est aussi utilisée comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture pour des effets très spécifiques : elle favorise la croissance et la fertilité : Des études sur les poissons d'aquarium ont montré les effets très bénéfiques de la spiruline en ce domaine (Kim et *al.*, 2006).

Ainsi, les poissons d'élevage, beaucoup plus fragiles que les poissons sauvages, sont souvent soumis à des infections virales et/ou bactériennes qui peuvent être catastrophiques en bassins.

Watanuki et *al.*, (2006) ont mis en évidence l'effet immunostimulant de *Arthrospira platensis* chez la carpe *Cyprinus carpio* (Laib, 2013).

### II.2.3. En cosmétique

La Spiruline est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus. Elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique (Spolaore et *al.*, 2006).

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

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

### II.2.4. En Agriculture

L'usage de certaines variétés d'algues comme moyen d'enrichir régulièrement les terres, amendement des terres, est un savoir-faire ancien commun aux populations du nord de l'Europe. La généralisation de l'utilisation d'engrais chimiques après la deuxième guerre mondiale mis fin à ce type de pratiques. Certaines sociétés aujourd'hui, se spécialisent dans la production d'engrais biologiques. La biomasse rejetée par les cultures de spiruline pourrait être valorisée dans ce sens (Banks, 2007).

### II.2.5. En Agroalimentaire

Elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées, Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline (Charpy et *al.*, 2008).

## II.3. Toxicité de la spiruline

La qualité sanitaire est l'état dans lequel se trouve le produit sur le plan bactériologique et toxique. Un produit alimentaire quel qu'il soit, se doit de présenter une qualité sanitaire irréprochable n'entraînant pas, chez le consommateur, des troubles de la

santé. L'avis favorable concernant l'emploi de la spiruline dans l'alimentation humaine a été émis par le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France, en 1989. (Tabutin et *al.*, 2002).

Il a émis l'avis suivant : « La spiruline peut être utilisée en alimentation humaine (entant que légumes ou condiments et non en tant que gélifiants ou épaississants) en l'état ou incorporé à d'autres denrées alimentaires. Ces algues doivent être conformes aux spécifications suivantes (valeurs exprimées par rapport à la matière sèche), en matière de toxicologie : Arsenic minéral  $\leq 3\text{mg /Kg}$  ; Iode  $\leq 500\text{ mg/Kg}$  ; Cadmium  $\leq 0.5\text{mg /Kg}$  ; Mercure  $\leq 0.1\text{ mg/Kg}$  ; Etain  $\leq 5\text{ mg/Kg}$  ; Plomb  $\leq 5\text{ mg/Kg}$  (Tabutin et *al.*, 2002)

Selon Tabutin et *al.*,(2002) le risque micro biologique est lié à la présence de microorganismes ou de substances élaborées par les microorganismes. Ce risque résulte souvent d'une maîtrise insuffisante des conditions d'hygiène au cours de la production, du stockage, du transport ou de la commercialisation des produits. Pour les algues en sachet les critères micro biologiques suivants :

- Germes aérobies mésophiles à  $30^{\circ}\text{C} \leq 100\ 000/\text{g}$  ;
- *Clostridium perfringens*  $\leq 1/\text{g}$  ;
- Coliformes fécaux à  $44.5^{\circ}\text{C} \leq 10/\text{g}$  ;
- *Staphylococcus aureus*  $\leq 100/\text{g}$  ;
- Anaérobies sulfite-réducteurs à  $46^{\circ}\text{C} \leq 100/\text{g}$  ;
- *Salmonella* absente dans 25 g.

Il n'existe aucun cas de surdose de spiruline documenté dans la littérature scientifique. Des consommateurs de plus de 10g/jour pendant plusieurs années d'affilées ne rapportent aucun effet négatif. En ce qui concerne le risque aigue, aucune donnée ne vient fixer de limite : des consommations de plus de 100g/jour ne semble eu aucune conséquence particulière. Une forte consommation de la spiruline provoque l'accumulation bénigne de caroténoïdes dans la peau, lesquelles provoquer une légère coloration orangée (Falquet et Hurni, 2006; Chine et Kouici, 2017).

*PARTIE*  
*EXPRIMENTALE*

*Partie II*

*MATERIEL ET METHODES*

## Partie II : Matériel et Méthodes

Cette partie pratique a été réalisée au niveau des laboratoires suivants :

- ❖ Laboratoires pédagogiques du département des sciences agronomiques de l'université Amar Telidji – Laghouat ;
- ❖ Laboratoires de recherche en sciences fondamentales de l'université Amar Telidji – Laghouat ;
- ❖ Laboratoire vétérinaire régional de Laghouat.

### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

Le matériel biologique ayant fait l'objectif de notre étude est représenté par deux souches de spiruline : *Arthrospira platensis* commercialisées en Algérie. Les échantillons ont été achetés directement de chez le producteur (pour la souche algérienne) et l'importateur (pour la souche Hawaïenne).

- **La spiruline algérienne**, en poudre (figure 17), conditionnée dans des sachets de 25g a été achetée de chez le Docteur HIRI qui produit cette microalgue dans des bassins de culture à Tamanrasset. Elle a été cultivée dans un milieu de culture enrichi par les éléments minéraux nécessaire à la croissance (milieu Hiri) ; récoltée, et séchée dans un séchoir solaire, à l'ombre et à température ambiante.



**Figure 17** : Photographie montrant un échantillon de la spiruline Algérienne.

- **La spiruline hawaïenne**, commercialisée en poudre conditionnée dans des sacs de 100g (figure 18), achetée de chez son importateur, est cultivée et récoltée principalement à Kona, Hawaï, États-Unis dotée d'une eau de mer cristalline et propre à une profondeur de 600 m. Cette spiruline est certifiée sans gluten, végétalienne, casher, halal et sans OGM. C'est la seule spiruline cultivée en Zone Bio sécurisée, certifiée sans pesticides, herbicides et polluants industriels.



**Figure 18** : Photographie montrant un échantillon de la spiruline hawaïenne.

## I.1. - Matériel technique

Le matériel technique utilisé durant notre expérimentation est représenté essentiellement par la verrerie ordinaire de laboratoire ; les différents appareillages utilisés sont regroupés dans l'annexe 01. Les produits chimiques et milieux de culture utilisés sont à leur tour regroupés dans l'annexe 02.

## II. Méthodes d'analyses

### II.1. Méthodes d'analyses biochimiques

#### II.1.1. Analyse granulométrique par tamisage (NF P 18-560)

L'analyse granulométrique permet de déterminer et d'observer les différents diamètres de grains qui constituent un granulat. Pour cela l'analyse consiste à séparer et classer à l'aide de tamis ces grains, constituant la poudre, selon leur diamètre.

Une prise d'essai de 100 grammes a été placée dans le tamis de diamètre le plus élevé, une série de tamis de 2mm, 1.4 mm, 500 $\mu$ m et 250 $\mu$ m a été utilisée (figure 19).

La vibration fait descendre les grains au travers les tamis jusqu'à ce qu'ils soient bloqués par le tamis de la taille correspondante au diamètre du grain :

- Le **refus** désigne la partie retenue dans un tamis. Le **refus cumulé** représente tous les grains bloqués jusqu'au tamis considéré (les grains du tamis considéré plus les grains bloqués dans les tamis de mailles supérieures).
- Le **tamisat** ou **passant** désigne la partie qui traverse le tamis

Les masses cumulées des différents refus sont exprimés en pourcentage par rapport à la masse initiale de l'échantillon.



**Figure 19** : Photographie montrant le dispositif utilisé pour l'analyse granulométrique.

### II.1.2. Détermination de la teneur en eau et en matière sèche

La dessiccation du produit est obtenue à température de  $103 \pm 2^\circ \text{C}$ , dans une étuve ventilée, à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse d'échantillon constante ; dont la teneur en eau est égale à la perte de masse subite dans les conditions de la mesure (Audigie, 1978).

#### ➤ Mode opératoire

- Sécher une capsule vide dans l'étuve durant 15mn à  $103 \pm 2^\circ \text{C}$ . ;
- Tarer la capsule après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser 2g ( $\pm 0.01$ ) de spiruline dans la même capsule et la placer dans l'étuve réglée à  $103 \pm 2^\circ \text{C}$ , pendant 3 heures ;

- Retirer la capsule de l'étuve et la placer dans le dessiccateur, après refroidissement elle est pesée et remise à l'étuve pendant 1 heure ;
- L'opération est répétée jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives soit nulle.
- Pour la bonne précision des résultats, 4 répétitions sont effectuées pour chaque souche.

➤ **Expression des résultats**

$$H = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

H : taux d'humidité, exprimé en pourcentage (%) en masse ;

$m_0$  : masse, en grammes, de la capsule vide ;

$m_1$  : masse, en grammes, de la capsule et de la prise d'essai ;

$m_2$  : masse, en grammes, de la capsule et le résidu sec.

**La teneur en matière sèche** est calculée par la formule suivante :

$$\text{Matières sèche (\%)} = 100\% - \text{Taux d'Humidité (\%)}$$

### II.1.3. Détermination du taux de cendres (NA 732).

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée : 550 C°.

➤ **Mode opératoire**

- Peser environ 1g de spiruline dans un creuset en porcelaine (figure 20) préalablement tarée;
- Faire passer le creuset au four à moufles à une température de 550°C pendant 5 heures ;
- Après refroidissement retirer le creuset et procéder à la pesée ;



Figure 20 : Photographie de la détermination du taux de cendres.

### ➤ Expression des résultats

Les résultats, exprimés en pourcentage du poids de cendres par rapport au poids initial, ont été obtenus à partir de l'expression suivante :

$$C = \frac{m_3 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

C : Taux de cendres, exprimé en pourcentage (%) en masse ;

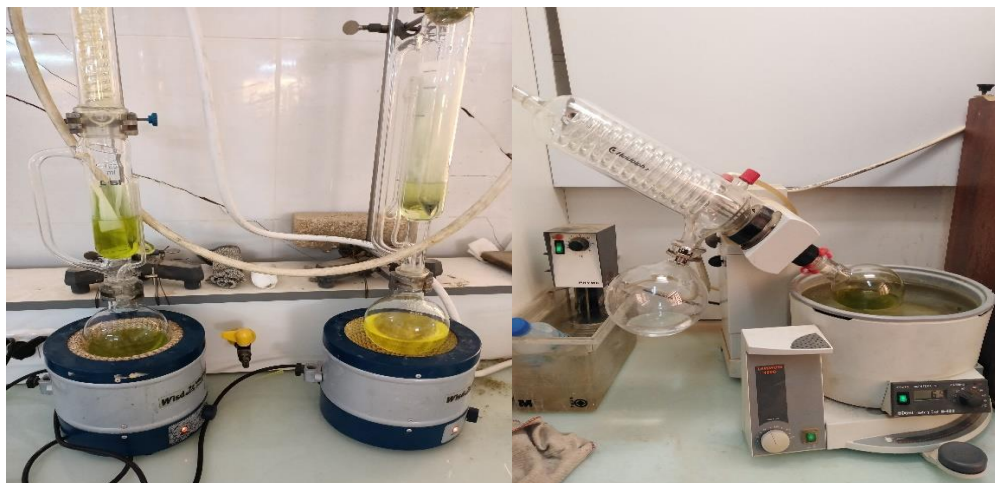
$m_0$  : Masse, en grammes, du creuset vide ;

$m_1$  : Masse, en grammes, du creuset et de la prise d'essai ;

$m_3$  : Masse, en grammes, du creuset et son contenu (cendres) après incinération.

#### II.1.4. Détermination de la teneur en matière grasse

L'extraction de la matière grasse s'est faite par entraînement avec l'hexane par procédé *Soxhlet* à partir de la poudre de spiruline. Une concentration dans l'évaporateur rotatif est essentielle (figure 21).



1. Extraction par Soxhlet

2. Concentration de la matière grasse



**Figure 21** : Photographie montrant les étapes de la détermination du taux de matière grasse.

Les résultats, exprimés en pourcentage du poids de gras par rapport au poids initial, sont donnés par la formule suivante :

$$MG = \frac{B_P - B_V}{P} \times 100$$

$MG$  : Taux de la matière grasse, exprimé en pourcentage (%) en masse ;

$B_P$  : Masse, en grammes, du ballon plein (après extraction) ;

$B_V$  : Masse, en grammes, du ballon vide ;

$P$  : Masse, en grammes, de la prise d'essai initiale.

### II.1.5. Détermination de la teneur en protéines (NFV03-050, 1970).

La détermination de la teneur en protéines a été faite suivant la méthode de Kjeldahl

#### a. Mode opératoire

##### Etape 1 : Minéralisation

Une prise d'essai de  $\pm 1$  g de l'échantillon dans un matras (3 essais pour chaque souche)

- Un essai à blanc doit être effectué en remplaçant l'échantillon par 5ml d'eau
- Ajouter  $\pm 5$ g de catalyseur (sulfate de cuivre 2.5g + sulfate de potassium 2.5g).
- Ajouter avec précaution 10ml d'acide sulfurique concentré.
- Lancer la minéralisation = chauffer lentement le réacteur pour éliminer l'eau présente jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de mousse.
- Augmenter la température 380°C pendant 1h à 3h. (les fumées blanches apparaissent au-dessus du liquide).
- Si le contenu de réacteur devient liquide ou de couleur paille, poursuivre la minéralisation pendant 1h.

- Laisser refroidir (à  $T^{\circ}C$  ambiant) et ajouter avec précaution 40ml d'eau distillée tout en agitant doucement pour éviter que l'échantillon se cristallise. (Si non remplir l'eau jusqu'à 2/3 de materas s'il adopté l'appareil de distillation.

### **Etape 2 : Distillation**

- Monter l'appareil à distiller en ajoutant 50ml d'acide sulfurique (0.05mol/l) ou 50ml d'acide borique dans une fiole de réception et s'assurer que le tube d'écoulement est sous la surface de l'acide.
- Ajouter avec précaution 30ml de solution d'hydroxyde de sodium en versant le long de la paroi de materas à distiller → mélanger doucement.
- Chauffer les materas de minéralisation de façon à ce que la distillation s'effectue à environ 10ml minute.
- Recueillir environ 120ml de distillat, puis abaisser la fiole de réception pour amener le tube d'écoulement au-dessus de la surface de l'acide et recueillir une quantité supplémentaire de 30ml de distillat.
- Arrêter la distillation et laver le tube d'écoulement avec un peu ( $\pm 5$ ml) d'eau distillée en récupérant l'eau de rinçage dans la fiole (ou erlenmeyer) de réception (compléter avec l'eau distillée si nécessaire)
- Utilisant le rouge de méthyle comme indicateur coloré.



**Figure 22 :** Photographie montrant l'étape de la distillation.

**Etape 3 : titrage**

- Le titrage a été effectué aussi rapidement après la distillation par une solution d'acide chlorhydrique (HCL) 0,25 N jusqu'à persistance du point de virage. Un essai à blanc a été inclus dans chaque série de dosage (figure 23).



**Figure 23** : Photographie montrant le titrage de la solution à analyser par l'acide chlorhydrique.

**b. Expression des résultats**

La teneur en azote totale, exprimée en gramme d'azote pour 100g d'échantillon, est donnée. Le résultat de la détermination est exprimé en protéine après multiplication de la teneur en azote totale par un coefficient approprié correspondant à la position du produit. La teneur en azote totale est déterminée par la formule suivante :

$$P = \frac{(V1 - V2) \cdot C \cdot 1,4}{m} \times 6,25$$

P: Le taux de protéine.

C : concentration de l'acide chlorhydrique (0.25N).

V1 : volume de titrage en ml.

V2 : volume de titrage de l'essai à blanc en ml.

m : masse de la prise d'essai de l'échantillon.

1,4 : masse atomique de l'azote.

6,25 : est le facteur de conversion de la protéine

### II.1.6. Dosage des pigments : la chlorophylle a et b

La chlorophylle a et b ont été déterminés selon la méthode modifiée par Aouir (2017), décrite par (El-Sheekh et Fathy, 2009).

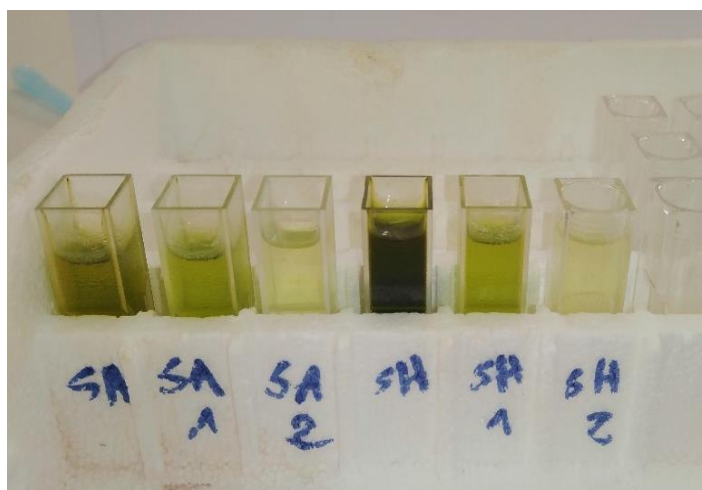
Dans ce procédé, un gramme de chaque échantillon de spiruline est mis en suspension dans 50 ml d'acétone à 90% et agité vigoureusement avec un agitateur magnétique. Les solutions ont ensuite été placées dans l'obscurité à 4°C et centrifugées à 4000 (xg) pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse (OHAUS-Frontier™ 5706). Les surnageants obtenus (figure 24) ont été utilisés pour déterminer la concentration de chlorophylle a (Chl a) et de chlorophylle b (Chl b) en mesurant l'absorbance aux longueurs d'onde 649 et 664 nm.

La densité optique est lue au spectrophotomètre UV / Visible (Shimadzu UV-1601 UV-VIS Spectrophotomètre). Le contenu en (mg/g) de chaque pigment a été quantifié à l'aide des équations ci-dessous citées (Lichtenthaler et Wellburn , 1985 ; Aouir, 2017) :

$$Chla = 13.75 \cdot A664 - 5.19 \cdot A649 \quad ;$$

$$Chlb = 27.43 \cdot A649 - 8.12 \cdot A664 \quad ;$$

Où : A664 et A649 sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde à 664 et 649 nm.



**Figure 24** : Photographie des surnageants obtenus utilisés pour la détermination de la teneur en pigments (Chla et Chlb).

### II.1.7. Dosage de la phycocyanine

Parmi les méthodes les plus précises pour mesurer la teneur en pigments il y'a la colorimétrie. Des suspensions de 4% et 1% de spiruline dans l'eau ont été préparé à l'abris de la lumière. On procède à une centrifugation (6000 tours pendant 22 min) puis on récupère le surnageant. Effectuer une dilution d'un facteur de 10 avec de l'eau distillée (Lafri,2017).



**Figure 25 :** Photographie des extraits aqueux de phycocyanine obtenus.

Afin d'optimiser l'extraction de la phycocyanine, nous avons procédé à différents essais :

Nous avons procédé à suivre l'évolution de la concentration et la pureté de la phycocyanine extraite à deux concentrations, soient, 1% et 4% de spiruline dans l'eau. La concentration de la phycocyanine a été mesurée après 1 heure, 24, 48 et 72 heures. Les extraits ont été placé à l'obscurité sous agitation constante (figure 26) et à température ambiante.



**Figure 26 :** Photographie montrant la préparation des extraits de la spiruline.

### ➤ Expression des résultats

Le dosage de la phycocyanine a été effectué par lecture de la densité optique à 615nm, 620nm, 640nm, 652nm et 280 nm. Soit Dil le facteur de dilution en volume. Le calcul du % en phycocyanine est réalisé selon la formule suivante :

- La concentration (C-pc) :

$$C\text{-pc} \left( \frac{mg}{ml} \right) = \frac{(Abs\ 620 - 0.474(Abs\ 652))}{5.34}$$

- La pureté de la phycocyanine est calculée par la relation suivante :

$$P_{Phyco.} = DO_{620} / DO_{280} \quad (M'Bye\ et\ al.,\ 2011).$$

- Le rendement par la relation :

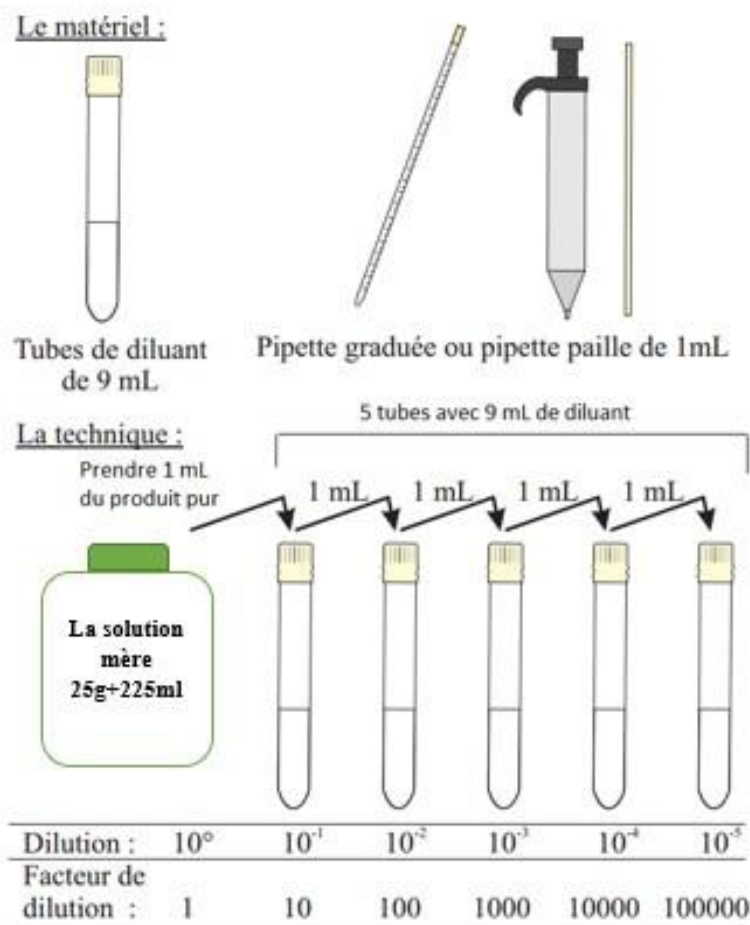
$$\text{Rendement} \left( \frac{mg}{ml} \right) = (C - pc \times Volume) / \text{biomasse}$$

## II.2. Méthodes d'analyses microbiologiques

Les analyses de microbiologie alimentaire destinées à détecter les agents pathogènes et d'altération présents dans les aliments permettent d'assurer la sécurité en continu des produits alimentaires. Ils peuvent être pathogènes ou toxigènes pour l'homme s'ils sont susceptibles de détériorer ou bien de compromettre la quantité d'un produit ; ils peuvent aussi indiquer si un produit a été traité de façon adéquate ou inversement, a été contaminé

### II.2.1. Préparation de la suspension mère des diluions (NFV08-057-2, 2004)

- Introduire aseptiquement 25g à l'aide de la balance de produit à analyser (25 g pour chaque souche de spiruline) dans une fiole jugée stérile préalablement taré contenant au préalable 225ml diluant (eau physiologie) (figure 27), homogénéisé. Cette suspension constitue alors la suspension mère (SM).



**Figure 27 :** Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

- Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1ml de la SM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du diluant ; cette dilution sera alors au 1/100 ou  $10^{-2}$ .
- Introduire par la suite 1ml de la dilution dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9ml du même diluant ; cette dilution a été alors au 1/1000 ou  $10^{-3}$  (figure 27).
- De la même façon, on procède à la préparation des dilutions ( $10^{-4}$ ) et ( $10^{-5}$ ) (figure 28).

Au moment de la réalisation des dilutions décimale, il est impératif de changer la pipette entre chaque dilution.



**Figure 28** : Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.

Ces dilutions serviront à la recherche des germes suivants :

- Germe Aérobie Mésophile totaux.
- Coliformes fécaux
- Anaérobies Sulfite-réducteurs et les *clostridium*s
- *Staphylococcus aureus*.
- Salmonelles

## II.2.2. Dénombrement des germe aérobie mésophile totaux (ISO4833-1, 2013)

### a. Principe

Une quantité déterminée de la suspension mère, est déposée dans une boîte de Petri vide et mélangée à un milieu de culture gélosé fondu spécifié, constituant ainsi une boîte de géloseensemencée en profondeur. D'autres boîtes sont préparées dans les mêmes conditions, à partir de dilutions décimales de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

Les boîtes sont incubées en conditions aérobie à 30 °C pendant 72 h.

Le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon ou le nombre de micro-organismes par millilitre d'échantillon est calculé à partir du nombre de colonies obtenues sur les boîtes contenant moins de 300 colonies.

### b. Mode opératoire

- Prendre des boîtes de Petri stériles.
- Au moyen d'une pipette stérile, transférer, dans chaque boîte, 1 ml d'échantillon pour essai, Si des boîtes sont préparées à partir de plus d'une dilution, le nombre de boîtes par dilution peut être réduit à une boîte.
- Prendre une autre boîte de Petri stérile. Utiliser une autre pipette stérile pour déposer 1 ml de la dilution à  $10^{-1}$ .
- Répéter, si nécessaire, ces opérations avec les dilutions suivantes, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale.
- Verser, dans chaque boîte de Petri, environ 12 ml à 15 ml de gélose PCA.

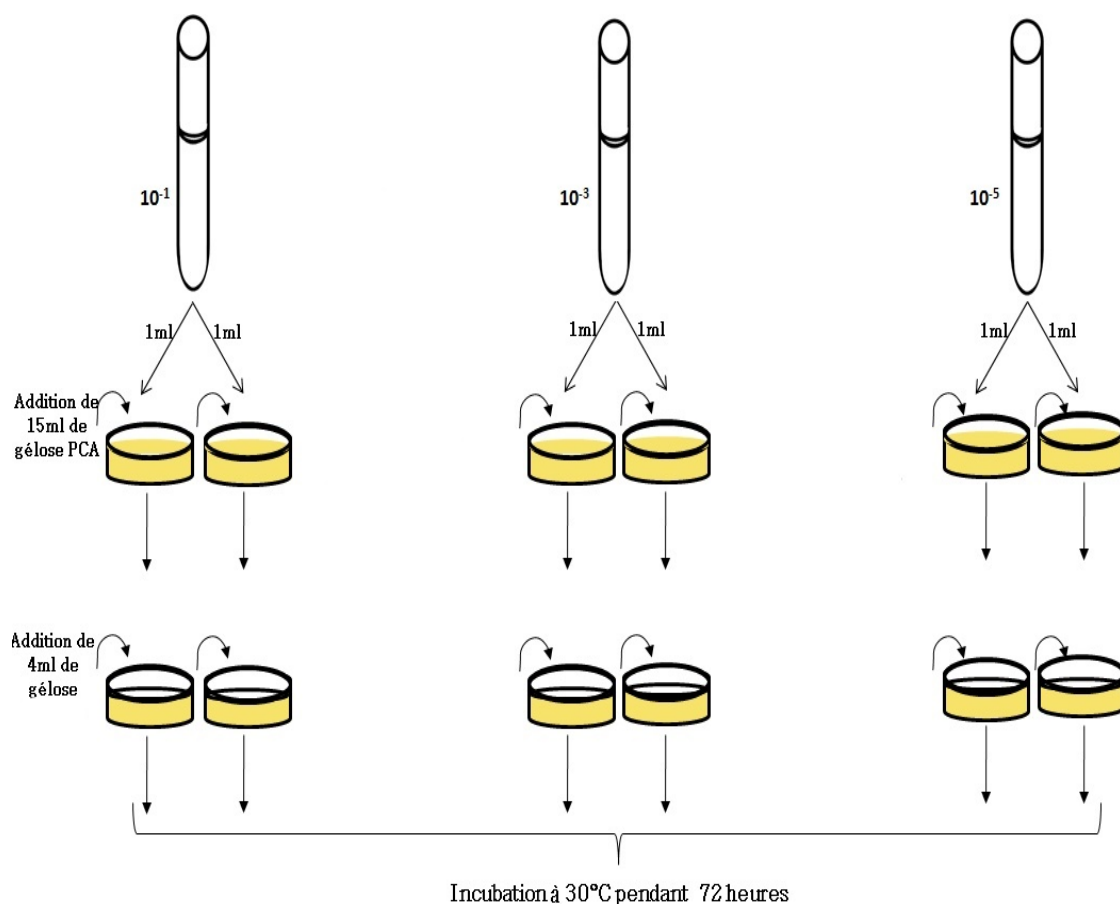


Figure 29 : Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.

- Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture en faisant tourner les boîtes de Petri et laisser le mélange se solidifier.
- Retourner les boîtes ainsi préparées et les placer dans l'étuve réglée à  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ , conformément à l'ISO 7218. Incuber pendant  $(72 \pm 3)$  h.

### c. Lecture des résultats

- Après la période d'incubation spécifiée, choisir les boîtes gélosées comportant, si possible, moins de 300 colonies. Compter toutes les colonies sur les boîtes, à l'aide d'un appareil de comptage, si nécessaire. Il est important d'inclure dans le comptage les colonies de la taille d'une tête d'épingle ;
- Les colonies envahissantes doivent être considérées comme une seule colonie. Si moins d'un quart de la boîte est envahi par de telles colonies, compter les colonies de la partie non envahie de la boîte et calculer le nombre de colonies correspondant à la boîte entière. Si plus d'un quart de la boîte est recouvert de colonies envahissantes, ne pas tenir compte de cette boîte pour le comptage.

## II.2.3. Recherche et dénombrement de coliformes fécaux (NFV08-050, 1992; NFV08-060, 2009)

Les coliformes fécaux appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae ; ce sont des bacilles Gram-, asporulés, oxydase-, aérobies ou anaérobies facultatifs possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à  $35 ^\circ\text{C}$  avec production de gaz (Bourgeois et Leveau, 1991).

### a. Principe

Les coliformes se distinguent des autres entérobactéries par leurs aptitudes à fermenter le lactose, leurs détections consistent à incuber l'échantillon à  $44^\circ\text{C}$  pendant 24h à 48h dans le milieu « **Violet Red Bile Lactose agar** » (VRBL) (annexe 02).

### b. Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales de chaque souche allant de  $10^{-3}$  à  $10^{-0}$ , porter aseptiquement 1ml dans des boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées
- Compléter ensuite chaque boîte avec 15ml de gélose (VRBL) préalablement fondue et refroidie.
- Faire ensuite les mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour bien mélanger la gélose à l'inoculum.

- Laisser les boîtes solidifier sur paille.
- Incuber les boîtes couvercles en bas pendant 24 à 48h : À 44°C pour la recherche des coliformes fécaux.

### c. Lecture

Les coliformes fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé, brillantes de 0.5mm de diamètre, dont le nombre est compris entre 30 et 300 colonies, on multiplie le nombre trouvé par l'inverse de dilution. Le résultat est exprimé en UFC/g ou UFC/ml de produit analysé.

## II.2.4. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* (ISOV0888.1, 1999)

### a. Principe

Ensemencement en surface d'un milieu gélosé sélectif, avec une quantité déterminée de la suspension mère. Dans les mêmes conditions, ensemencement des dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai.

### b. Mode opératoire

- Transférer, à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 ml de la suspension mère, dans une boîte de milieu gélosé de Baird Parker (BPA) (voir Annexe 02). Dans le cadre des techniques de dénombrement en microbiologie de la chaîne alimentaire, le nombre de boîtes de Petri à utiliser en fonction des dilutions soumises à essai est indiqué dans l'ISO 7218. Répéter le mode opératoire pour les dilutions décimales suivantes si nécessaire.
- Étaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface de la boîte de milieu gélosé, en évitant de toucher les bords de la boîte de Petri, à l'aide de pipette pasteur. Laisser sécher les boîtes, avec leur couvercle en place, pendant environ 15 min à température ambiante.
- Retourner les boîtes préparées selon les instructions ci-dessus et les placer dans l'étuve réglée à une température comprise entre 34 °C et 38 °C pendant 24 h ± 2 h. Puis incuber à nouveau pour atteindre une durée totale de 48 h ± 4 h.

### c. Lecture des résultats

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (de 1 mm à 1,5 mm de diamètre après 24 h ± 2 h d'incubation, et de 1,5 mm à 2,5 mm de diamètre après 48 h ± 4 h d'incubation) et sont entourées d'un halo d'éclaircissement qui peut être partiellement opaque. Après au moins 24 h d'incubation, peut apparaître dans ce halo d'éclaircissement un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

#### d. Confirmation

La confirmation des staphylocoques à coagulase positive est effectuée par un essai de coagulase en tube. La confirmation peut également être réalisée par un essai sur boîte de milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène (RPFA).

##### ❖ Essai en tube

À l'aide d'un fil stérile, prélever un inoculum de la surface de chaque colonie sélectionnée et le transférer dans un tube ou un flacon de bouillon cœur-cervelle (BHI). À l'aide du même fil, étaler la suspension sur un milieu non sélectif (gélose au sang ou gélose nutritive) et incuber à une température comprise entre 34 °C et 38 °C pendant 24 h ± 2 h pour vérifier la pureté de la colonie sélectionnée (morphologie homogène).

Incuber le bouillon cœur-cervelle, de préférence dans un bain d'eau, à une température comprise entre 34 °C et 38 °C pendant 24 h ± 2 h.

##### ❖ Test de la catalase

Le test de catalase étant aussi un examen clé de confirmation de la pureté des souches, sur une lame propre et séchée déposer une goutte de l'eau oxygénée à 10 volumes puis à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, ajouter l'inoculum bactérien. Observer immédiatement

##### ➤ Lecture

- Apparition de bulles et dégagements gazeux de dioxygène : catalase +
- Pas de bulles : catalase -

#### II.2.5. Recherche de *Salmonella* (ISO6579, 2002)

Pour la préparation de la suspension mère, utiliser dans le cas général comme diluant le milieu de Pré-enrichissement spécifié eau peptonée tamponnée (EPT) ou de l'eau physiologique : 225 ml de l'eau physiologie dans une fiole jugée avec une masse de prise d'essai de 25g (la même méthode pour chaque souche).

La recherche de *Salmonella* nécessite différentes phases successives :

##### ✓ Étape 1 : Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans de l'eau physiologie à température ambiante, puis incubation à 37 °C ± 1 °C pendant 18 h ± 2 h.

✓ **Étape 2 : Enrichissement en milieux sélectifs liquides**

Ensemencement du bouillon Rappaport avec 0.1 ml de l'inoculum puis incubation à 44 °C ± 1 °C pendant 24 h ± 3 h

✓ **Étape 3 : Isolement et identification**

À partir des cultures obtenues, ensemencement de deux milieux sélectifs solides :

- Gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD). Un autre milieu sélectif solide (Hektoen)
- Incubation du milieu gélose XLD et Hektoen à 37 °C ± 1 °C puis examen après 24 h ± 3 h.
- Après 24 h ± 3 h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*, ainsi que les colonies atypiques susceptibles d'être des *Salmonella*. Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

## **II.2.6. Recherche et dénombrement des Spores de bactéries anaérobies sulfite réducteurs et de *Clostridium perfringens* (XPV08.061, 1996)**

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des spores des bactéries Anaérobies Sulfite-Réductrices et de *Clostridium perfringens* dans les deux souches de la spiruline, par incorporation en gélose en tubes profonds.

### **a. Principe**

Les microorganismes sulfite-réducteurs réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies (ISO14189, 2013).

Pour effectuer le dénombrement spécifique des *Clostridium perfringens*, il est recommandé d'incuber le milieu à 37°C et de procéder ensuite à la confirmation des colonies caractéristiques. La flore contaminante est presque totalement inhibée par la D-cyclosérine qui diminue également la taille des halos noirs se développant autour des colonies.

### **b. Mode opératoire**

A partir de la dilution décimale de chaque souche :

- Transférer environ 1 ml pour les dilutions (SM,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) dans des tubes stériles, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de  $80^{\circ}\text{C}$  pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies sulfito-réductrices éventuellement présentes ;
- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse, sous l'eau de robinet ;
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose viande foie (l'annexe 02) préalablement fondue puis refroidie à  $47^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  et additionnée de ses additifs spécifiques soit une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium ;
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène ;
- Laisser solidifier sur paillasse pendant environ 30 minutes, puis incuber à  $37^{\circ}\text{C}$  pour les anaérobies sulfito-réductrices, et  $44^{\circ}\text{C}$  pour les *Clostridium perfringens* pendant 24 à 48 heures.

### c. Lecture

Dénombrer toute colonie noire de 0,5 mm de diamètre, ayant poussé en masse.

## II.3. Plans d'échantillonnage et d'interprétation

Selon la CINM (Commission Internationale des Normes Microbiologiques) relatives aux denrées alimentaires, le principe de base des méthodes d'échantillonnage pour l'analyse des produits alimentaires considère qu'un échantillon analysé donne des résultats non satisfaisants s'il contient des germes en nombre supérieur à une limite au-delà de laquelle il devient potentiellement dangereux et/ou s'il renferme des microorganismes dangereux.

Dans cette méthode, « m » représente la limite permettant de considérer les échantillons comme acceptables ( $\text{valeur} \leq m$ ) ou inacceptables ( $\text{valeur} \geq m$ ). La valeur du m est définie par les normes microbiologiques spécifiques pour chaque aliment. Pour certains microorganismes.

Schématiquement, nous avons deux types de plan d'échantillonnage qui sont applicables en analyses Microbiologiques des aliments :

Plan d'échantillonnage a 2 classes.

Plan d'échantillonnage a 3 classes.

### II.3.1. Plan à trois classes

Ce plan (figure 30) est désigné parce que les résultats des examens interprétés sur cette base permettent de fixer trois classes de contamination, à savoir :

- Celle inférieure ou égale au critère « **m** » ;
- Celle comprise entre le critère « **m** » et le seuil « **M** » ;
- Celle supérieure au seuil « **>M** ».

Les critères qualitatifs « **m** » et « **M** », sauf autre indication, expriment le nombre de gemmes présents dans un gramme ( g ) d'aliment et dans 25 grammes d'aliment pour les *Salmonella*.

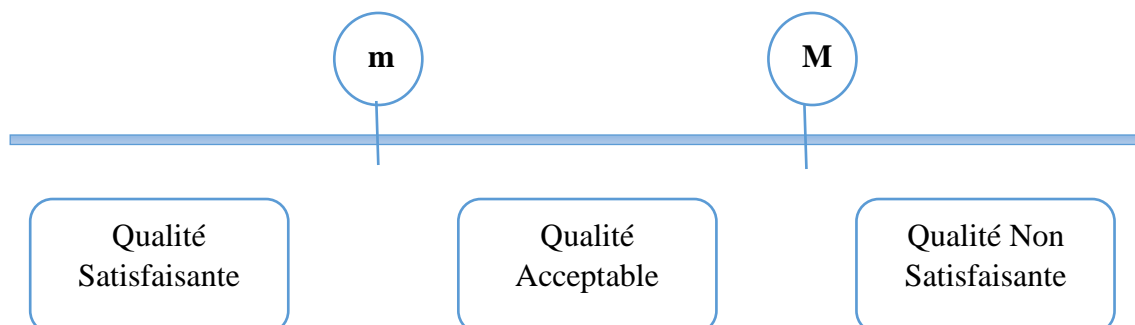
- **m** seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante. Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants
- **M** seuil limite d'acceptabilité au - delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique :

$M = 10 m$  lors du dénombrement effectué en milieu solide

$M = 30 m$  lors du dénombrement effectué en milieu liquide

**N** : nombre d'unités composant l'échantillon

**C** : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre - m - et - M



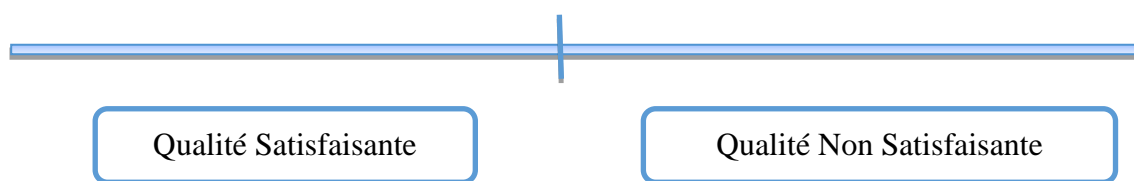
**Figure 30** : Représentation d'un plan d'interprétation, des résultats microbiologiques, à trois classes

### II.3.2. Plan à deux classes

Ce plan (figure 31) donne des résultats permettant de déterminer 2 classes de contaminations. Ce type de plan n'accepte aucune tolérance et correspond le plus souvent aux conclusions :

- Absence dans (le résultat est bon et le produit jugé satisfaisant)
- Présence dans (le résultat est mauvais et le produit est déclaré impropre à la consommation)

Ce plan est applicable aux contaminations par les *Salmonella* dans notre étude.



**Figure 31 :** Représentation d'un plan d'interprétation, des résultats microbiologiques, à deux classes

#### II.4. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne, de la spiruline et celle des extraits aqueux (de phycocyanine) des deux souches de spiruline, a été évaluée sur cinq souches microbiennes (tableau 07).

**Tableau 07 :** Caractéristique des souches microbiennes testées

Bactéries	Références	Type
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Gram -
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	Gram+
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	Gram+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram-
<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 213076	Gram -

##### ❖ Antibiotiques pour la comparaison positive

En testant l'activité des extraits et de la spiruline sur les cinq espèces bactériennes, deux antibiotiques ont été utilisés afin de comparer l'activité biologique des extraits ou de la spiruline avec ces deux antibiotiques :

- Fosfomycin SD205-1CT
- Nalidixic acid NAL30µg

#### II.4.1. Préparation des extraits de Spiruline

##### ➤ Les extraits de la phycocyanine de concentration de 4% et 1%

Pour tester l'effet antibactérien, des extraits aqueux de la spiruline ont été préparés. 4 g (pour obtenir un extrait de concentration de 4%) et 1 g (pour obtenir un extrait de concentration de 1%) de chaque poudre de spiruline (Algérienne et Hawaïenne) ont été dissoutes dans 100 ml d'eau distillée dans quatre erlenmeyers stériles et agités à l'aide d'un agitateur

magnétique pendant une heure, puis les solutions obtenues ont été centrifugées à 6000 tr/min pendant 20min.

#### ➤ Préparation de la spiruline

La spiruline a été utilisée en solution, pour cela différentes concentrations ont été testées : 100%, 75%, 50% et 25% de spiruline dans l'eau distillée stérile.

### II.4.2. Antibiogramme

#### Réalisé selon Standardisation Medveto (2008)

##### a. Milieu utilise

- Gélose Mueller Hinton (MH) (voir annexe 02), coulée en boîtes de Petri sur une épaisseur de 4mm.
- Les géloses sont laisser se solidifier avant l'emploi.

##### b. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, des 5 bactéries testées citées dans le tableau 08, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland ;
- 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 ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

##### c. Ensemencement

- Ensemencer l'inoculum (turbidité ajustée à 0.5 McFarland) en surface par un écouvillon et laisser sécher les boites pendant cinq minutes ;
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois. ;
- Imprégner des disques stériles de 7mm (papier wattman) par 10 µl de chaque extrait ;
- Déposer les disques à la surface du milieu de culture à l'aide d'une pince stérile et presser doucement pour assurer leur contact avec la surface de milieu ;

#### **d. Application des disques d'antibiotiques**

- Il ne faut pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé.
- Incuber à 37°C pendant 24heures.

#### **e. Lecture**

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée.
- Comparer les résultats de l'activité biologique des extraits de la spiruline et de la spiruline avec l'activité des antibiotiques.

### **III. Analyses statistiques**

Le logiciel " IBM SPSS Statistiques version 25 " (SPSS Version 25, Spss Inc. Chicago, Illinois, USA, 2017) a été utilisé pour toutes les analyses statistiques. Une analyse de variance unidirectionnelle (test ANOVA à 1 facteur) avec un seuil de signification de 95 %, a été appliquée pour tester la différence entre la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne, et tous les critères étudiés (Taux d'humidité, pH, taux de matière grasse, etc...) ont été prisent comme des paramètres d'étude.

## *Partie III*

# *Résultats et Discussions*

## Partie III. Résultats et Discussions

### II.1. Résultats des analyses physicochimiques

#### II.1.1. Analyse granulométrique

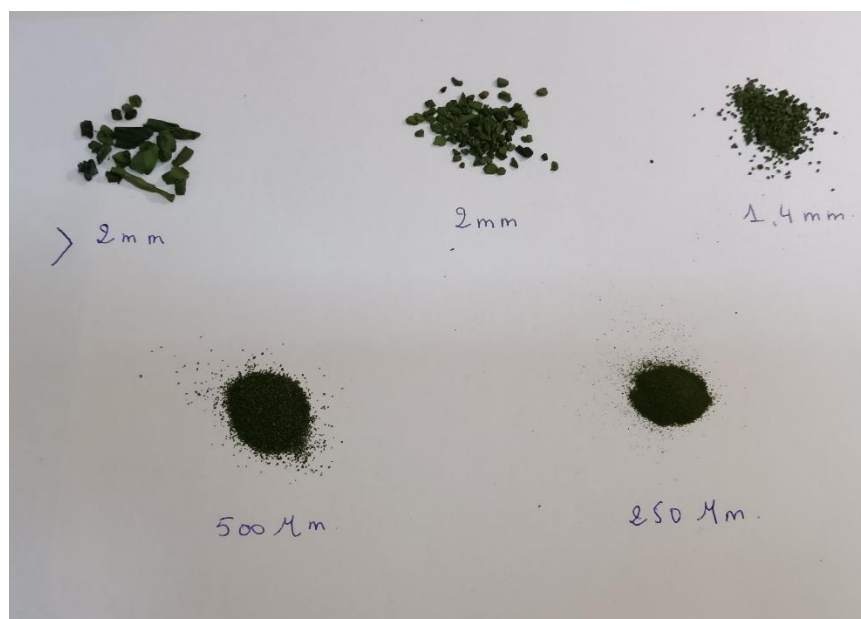
L'analyse granulométrique permet de déterminer et d'observer les différents diamètres de grains qui constituent un granulat ou une poudre. Pour cela l'analyse consiste à séparer et classer à l'aide de tamis ces particules selon leur diamètre.

Les spirulines étudiées dans ce travail se présentent sous forme de poudre. Les résultats de leurs granulométries sont regroupés dans le tableau 08.

**Tableau 08 :** Résultats de la détermination de la granulométrie de la poudre des deux spirulines.

Diamètre	>2mm	2mm	1,4mm	>500µm	500µm	250µm
Sp. Algérienne (%)	2.98	4.82	<b><u>48.32</u></b>	/	<b><u>26.76</u></b>	<b><u>17.12</u></b>
Sp. Hawaïenne (%)	/	/	/	0.66	<b><u>49.76</u></b>	<b><u>49.58</u></b>

La figure 32 montre l'hétérogénéité de la poudre de la spiruline algérienne, Cette dernière peut être classée en tant qu'une poudre modérément fine ; La spiruline de Hawaï est considérée comme étant une poudre très fine.



**Figure 32 :** Photographie montrant l'aspect des différentes fractions de la spiruline de Tamanrasset issu après l'analyse granulométrique

Dans le domaine pharmaceutique, l'analyse granulométrique revêt une importance d'autant qu'elle conditionne en partie l'activité des médicaments.

Parmi les conséquences technologiques de la granulométrie d'une poudre, nous pouvant citer son influence sur : La rhéologie : l'augmentation du degré de finesse entraîne généralement une diminution de la fluidité ; Le pouvoir adsorbant des poudres ; La stabilité des suspensions ; L'homogénéité et la stabilité des mélanges de poudres

Ainsi et suite à la préparation de spiruline en forme galénique, des comprimés, cette granulométrie peut avoir un effet sur la qualité des comprimés : régularité de dosage, dureté friabilité...etc.

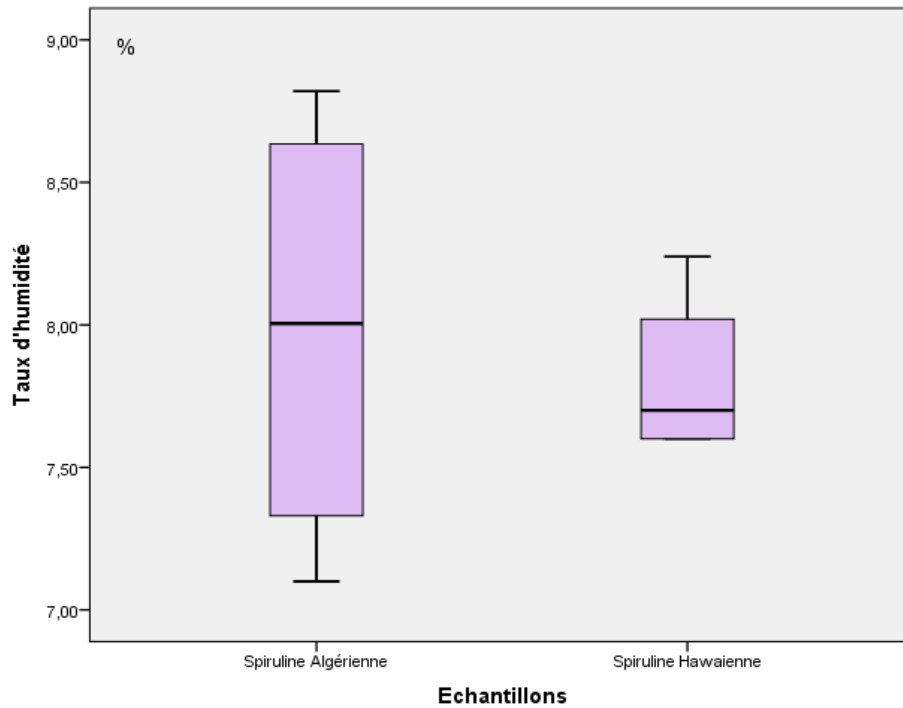
En outre, cette granulométrie peut avoir un effet sur la biodisponibilité des principes actifs peu solubles administré sous forme solide et sur leur vitesse de dissolution.

La stabilité physicochimique de la spiruline peut aussi être liée à sa granulométrie : l'augmentation du degré de finesse entraîne une augmentation de la surface, donc de la réactivité de la substance avec tous ses risques de dégradation. Ainsi, les caractères organoleptiques : augmentation du degré de finesse entraîne une augmentation de surface de contact avec les papilles gustatives et s'accompagne souvent de sensation d'amertume, Le goût est donc influencé par la finesse de la poudre de spiruline (Anonyme 2020).

### **II.1.2. Taux d'humidité**

Les boîtes à moustache (fig. 33) représentent les différentes valeurs du taux d'humidité dans les deux spirulines, ce taux varie légèrement ; notons que la valeur maximale et la valeur minimale étant marquées dans la spiruline algérienne.

D'après le tableau 09, le taux d'humidité de la spiruline algérienne a affiché sa valeur maximale et atteint 8.82%, et une valeur minimale dans la même souche avec une valeur de 7.10%. De plus, l'analyse ANOVA unidirectionnel confirme que la variation en taux d'humidité entre les deux souches de spiruline est non significative avec la valeur ( $P = 0,698$ ). Dans notre étude, le taux d'humidité moyen enregistré dans la spiruline Hawaïenne est de l'ordre de  $7,81 \pm 0,301$ .



**Figure 33 :** Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux d'humidité (%) de la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.

**Tableau 09 :** Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux d'humidité (%) dans la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.

Taux d'humidité (%)	Max (%)	Min (%)	Moy $\pm$ Ecart type (%)	Valeur de <i>P</i>
Spiruline Algérienne	8,82	7,10	7,98 $\pm$ 0,791	0,698
Spiruline Hawaïenne	8,24	7,6	7,81 $\pm$ 0,301	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative.

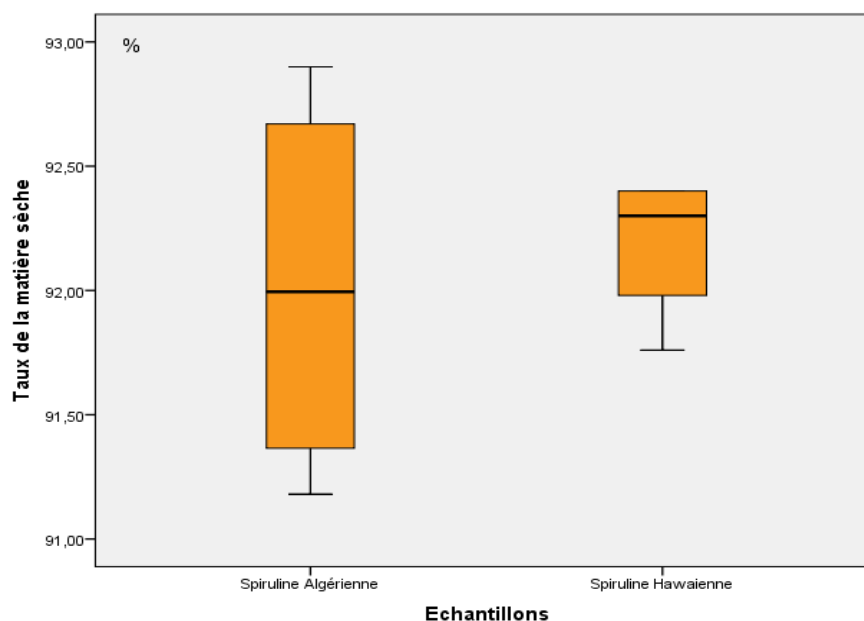
Nos résultats sont semblables à la teneur en humidité de la spiruline  $7.08 \pm 0.96$  % trouvé par M'Baye et *al* (2011). Et semblables aux résultats de plusieurs travaux qui sont tous inférieurs à 10 (Espiard, 2002 ; Lounici, 2010 ; Aouir, 2017 ; Lafri, 2017).

La teneur en humidité des deux souches de spiruline est inférieure de 10%, conditions recommandées pour le stockage à long terme des poudres de cette micro-algue (Becker, 1995). Un taux d'humidité résiduel limite se situe vers 8% au-delà duquel la croissance de moisissures et de bactéries devient possible (Belay, 1997).

### II.1.3. Taux de matière sèche

Les résultats du Taux de matière sèche la spiruline Algérienne et hawaïenne sont représentés par le tableau et la figure 34.

Les boîtes à moustaches de la figure 34, montrent que les teneurs en matière sèche dans les deux souches de spiruline analysées varient légèrement, notons que la valeur maximale et la valeur minimale étant marquées dans la spiruline algérienne.



**Figure 34 :** Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de la matière sèche (%) de la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.

Suivant le tableau 10, la teneur en matière sèche de la spiruline peut toucher un maximum de 92,90%, et un minimum de 91,18% dans la spiruline algérienne. Le test ANOVA unidirectionnelle confirme qu'il n'existe pas une différence significative entre ces teneurs de et la valeur P trouvée est ( $P = 0,698$ ). Le taux de matière sèche dans la spiruline dans notre étude varie de  $92,017\% \pm 0,791$  chez la spiruline algérienne et  $92,190 \pm 0,301$  % chez la spiruline hawaïenne.

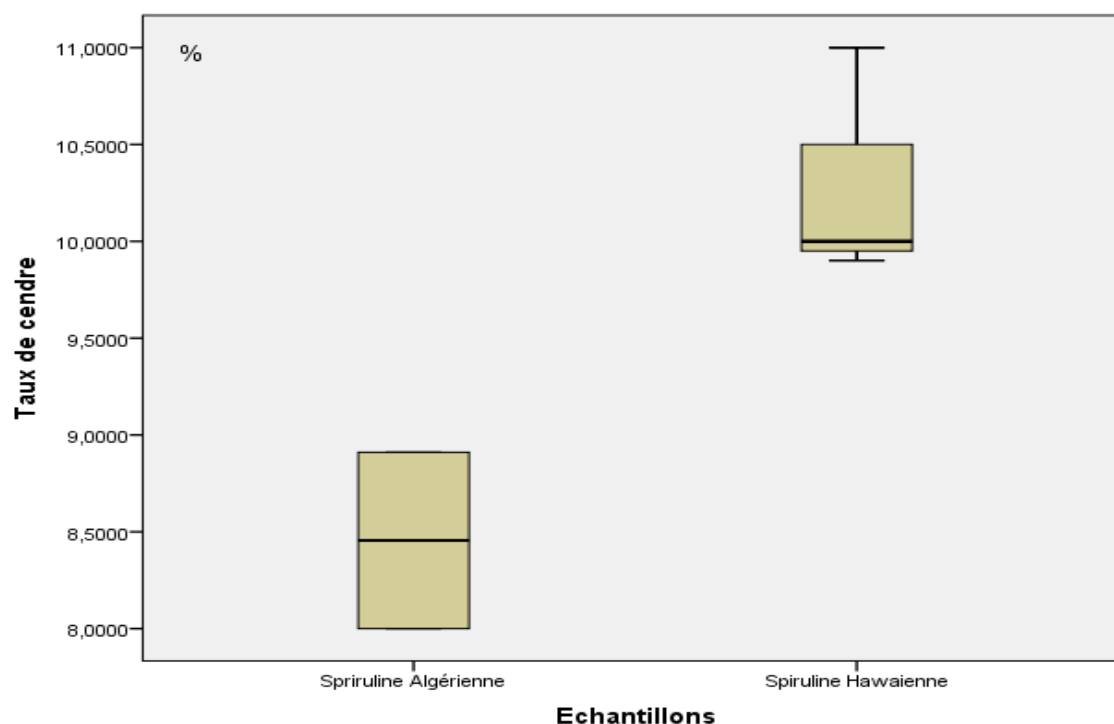
**Tableau 10 :** Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de la matière sèche (%) dans la Spiruline Algérienne et la Spiruline Hawaïenne.

Taux de la matière sèche (%)	Max (%)	Min (%)	Moy $\pm$ Ecart type (%)	Valeur de P
Spiruline Algérienne	92,90	91,18	$92,017 \pm 0,791$	0,698
Spiruline Hawaïenne	92,40	91,76	$92,190 \pm 0,301$	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative.

#### II.1.4. Taux de cendre

D'après les boîtes à moustaches de la figure 35, les teneurs en taux de cendres des deux spirulines étudiées varient considérablement, les valeurs maximales étant observées chez la spiruline hawaïenne et les valeurs minimales chez la spiruline algérienne.



**Figure 35 :** Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de cendre (%) des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.

Selon le tableau 11, la teneur en cendres dans la spiruline hawaïenne a atteint un maximum de 11 % alors que la spiruline algérienne présente le minimum de la teneur en cendres avec un taux de 8 %.

**Tableau 11 :** Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux du cendre (%) dans les Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.

Taux du cendre (%)	Max (%)	Min (%)	Moy $\pm$ Ecart type (%)	Valeur de <i>P</i>
Spiruline Algérienne	8,91	8	8,455 $\pm$ 0,525	0,003**
Spiruline Hawaïenne	11	9,90	10,225 $\pm$ 0,518	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative.

La différence de la teneur en cendres entre les deux spirulines a été confirmée par l'analyse ANOVA unidirectionnelle avec ( $P = 0,003^{**}$ ). Le taux de cendres moyen de la spiruline algérienne dans notre étude est de l'ordre de  $8,455 \pm 0,525$  et il est de  $10,225 \pm 0,518$  % pour la spiruline hawaïenne.

Les cendres représentent la quantité totale en sels minéraux présents dans une substance. Nos résultats montrent que la spiruline hawaïenne présente une teneur relativement élevée. La teneur trouvée est supérieure à celle rapportée par Aouir (2017) qui est de l'ordre de  $9,20 \pm 0,113$  %. La teneur en cendres trouvée dans la spiruline Algérienne est semblable à celle trouvée par

M'Baye et *al.* (2011) égale à  $8.33 \pm 0.98\%$ . Bensehaila et *al.* (2015), a signalé un taux de cendres de  $6.88 \pm 0.05\%$ .

D'une manière générale, le contenu en cendres de la spiruline est compris entre 7 à 10% : valeurs recommandées par Jourdan (2011).

On peut lier la différence de ces résultats à la différence des conditions de culture : Des enrichissements dans le milieu de culture en Zn, Fe, Se peuvent fortement augmenter la teneur en ces minéraux de la Spiruline (Kiet et *al.* 1994).

### II.1.5. Détermination du potentiel d'hydrogène (pH)

Les résultats du pH de deux souches de spiruline sont représentés par le tableau et la figure.

Les boîtes à moustache (figure 36) représentent les différentes valeurs de pH dans les deux spirulines, une variation nette et claire peut être observée avec des valeurs maximales dans la spiruline algérienne, et des valeurs minimales dans la spiruline hawaïenne.

**Tableau 12** : Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des pH des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.

Ph	Max	Min	Moy $\pm$ Ecart type	Valeur de <i>P</i>
Spiruline Hawaïenne	9,20	9,07	$9,113 \pm 0,075$	0,0001***
Spiruline Algérienne	6,16	6,16	$6.16 \pm 0,000$	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative

D'après le tableau 12, le pH de la spiruline algérienne a affiché sa valeur maximale et atteint 9,20, et une valeur minimale au niveau de la spiruline hawaïenne avec une valeur de 6,16. De plus, l'analyse ANOVA unidirectionnel confirme que la variation du pH entre les deux spirulines est hautement significative avec la valeur ( $P = 0,0001***$ ). Dans notre étude, le pH moyen enregistré dans la spiruline algérienne et hawaïenne se situe dans la plage de variation de  $9,113 \pm 0,075$  et  $6.16 \pm 0,000$  respectivement.



**Figure 36 :** Planche représentative des boîtes à moustache des différents pH des Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.

Nos résultats semblent ne pas être conformes aux normes françaises qui recommandent un pH entre 7 et 9 pour la spiruline. Nos deux échantillons de spiruline présentent des valeurs de pH en dehors de cette fourchette : la spiruline algérienne présente un pH légèrement élevé ( $9,113 \pm 0,075$ ) et la spiruline Hawaïenne un pH légèrement acide ( $6,16 \pm 0,000$ ).

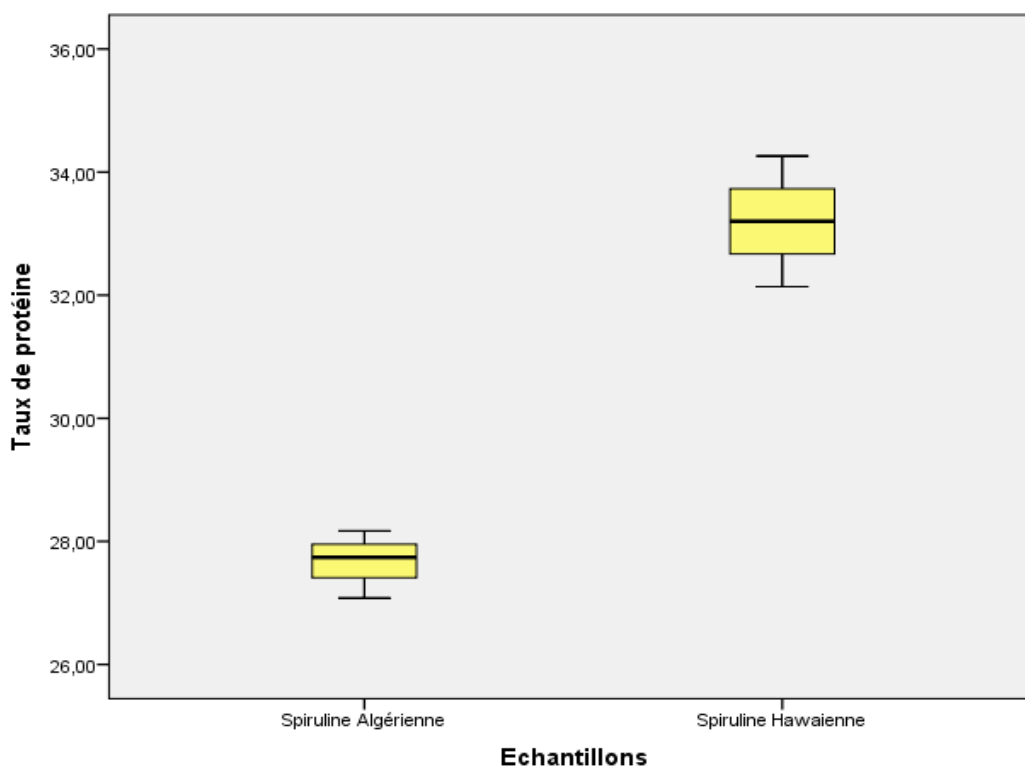
Selon les résultats de Benahmed et *al.*, (2011), la spiruline présente un pH acide à une valeur de 6.81.

Selon Jordan (2013), l'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium qui peut être remplacé en partie par de la soude caustique ou du carbonate de sodium qui ont d'ailleurs l'avantage de relever le pH initial du milieu de culture. Il faut ajouter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  très doucement à la culture pour éviter le choc de pH (Fox, 1999). Le Dr. Hiri ajoute du Natron, une sorte de roche naturelle alcaline. La présence de résidu de cette terre peut être liée au pH relativement élevé de la spiruline algérienne.

En revanche, il est connu que si la spiruline est séchée à une température assez élevée (60 à 65°C) et qu'elle est réhydratée, ses cellules s'éclatent, entraînant ainsi un abaissement de pH, parfois jusqu'à avoir la valeur 5. Le pH obtenu est d'autant plus bas que la spiruline est bien essorée, ce bas pH serait dû à l'acidité interne des cellules, et/ou à la fermentation commençante (Jourdan, 2012).

### II.I.6. Taux de Protéine

D'après la figure 37, les teneurs en protéines des deux spirulines varient considérablement, les valeurs maximales étant observées chez la spiruline hawaïenne et les valeurs minimales chez la spiruline algérienne.



**Figure 37:** Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de protéine (%) de la Spiruline Algérienne et de la Spiruline Hawaïenne.

Selon le tableau 13, la teneur en protéines dans la spiruline hawaïenne a atteint un maximum de 34,26 % et un minimum de 27,07 % chez la spiruline de Tamanrasset. La différence significative dans teneur en protéines entre les deux spirulines étudiées a été confirmée par l'analyse ANOVA unidirectionnelle avec ( $P = 0,001^{**}$ ). Le taux de protéines moyen de la spiruline de Hawaï et de Tamanrasset dans notre étude varie entre  $33,200 \pm 1,060$  % et  $27,663 \pm 0,549$  % respectivement.

**Tableau 13:** Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de protéine (%) dans les deux souches étudiées de spiruline.

Taux de protéine (%)	Max (%)	Min (%)	Moy $\pm$ Ecart type (%)	Valeur de $P$
Spiruline Algérienne	28,17	27,07	$27,663 \pm 0,549$	0,001**
Spiruline Hawaïenne	34,26	32,14	$33,200 \pm 1,060$	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative.

La spiruline (SH) présente une teneur en protéines qui semble être proche de celle de la spiruline de Cameroun  $36.09\% \pm 4.64$  (Baadi et Menadi, 2014). Notons aussi que nos résultats sont très faibles par rapport à ceux rapportés par plusieurs auteurs (Aouir, 2017).

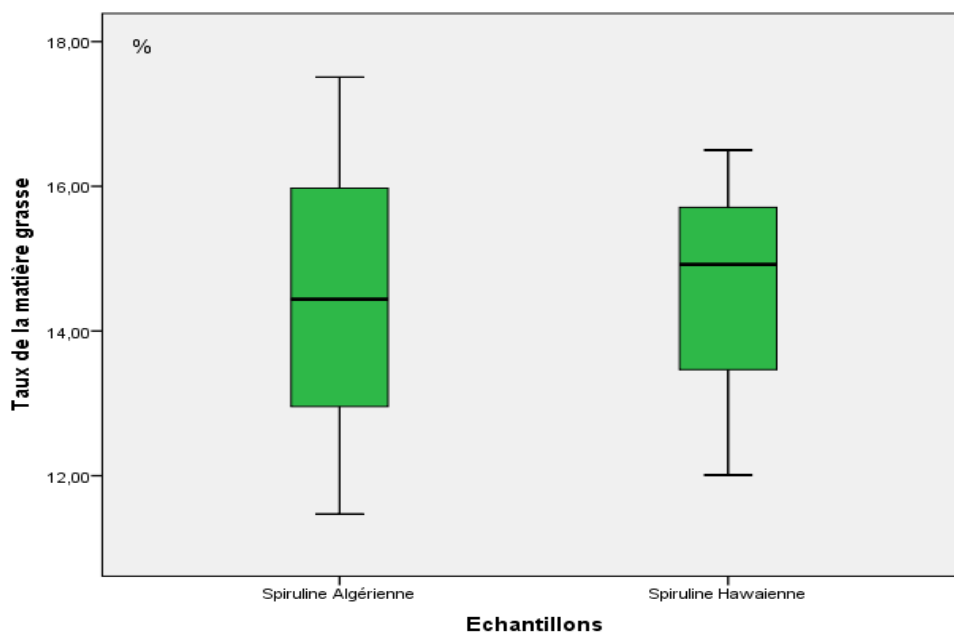
Selon Pierlovisi (2007) les teneurs de protéines varient cependant en fonction du moment de la récolte et de la technique de séchage utilisée : elles seront maximales quand la spiruline sera récoltée en début de photopériode et quand le séchage se fera par pulvérisation.

La teneur en protéines peut décroître de 10 à 15% selon le moment de la récolte, celle en méthionine (AA soufré) de 30% selon le mode de séchage. Les conditions pour une teneur optimum sont une récolte au début de la photopériode et un séchage par pulvérisation au détriment des tambours chauffants (AFAA, 1982 ; Fox, 1999 ; Falquet et Hurni, 2006).

Ainsi, le mode de séchage appliqué à la spiruline et surtout la température influencent la teneur en protéines : après une éventuelle dénaturation : une diminution du taux de protéines peut être observé par suite d'une combinaison des protéines en réaction de Maillard (Cheftel et Cheftel, 1979 ; Desmorieux et Hernandez, 2004 ; Lounici, 2010).

Dans notre cas le couvercle du minéralisateur de l'université était détruit, raison pour laquelle, nous pouvons dire qu'une perte de l'azote gazeux dégagé lors de la minéralisation peut justifier le taux faible de protéines trouvé.

### II.I.7. Taux de la matière grasse



**Figure 38 :** Planche représentative des boîtes à moustache des différents taux de la matière grasse (%) des *Spiruline Algérienne* et *Spiruline Hawaïenne*.

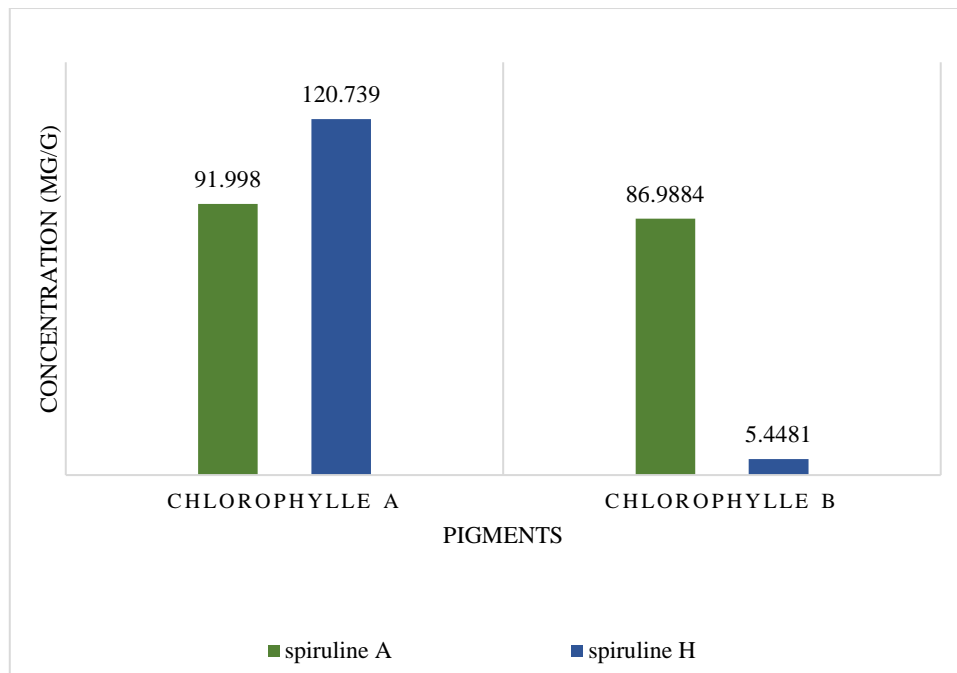
**Tableau 14 :** Statistiques descriptives, et analyse de variance (ANOVA à 1 facteur) des taux de matière grasse (%) dans les Spiruline Algérienne et Spiruline Hawaïenne.

Taux de protéine (%)	Max (%)	Min (%)	Moy ± Ecart type (%)	Valeur de P
Spiruline Algérienne	17,51	11,47	14,473 ± 3,020	0,999
Spiruline Hawaïenne	16,50	12,01	14,476 ± 2,277	

0,1 : Non significative / 0,001\*\* : Significative / 0,0001\*\*\* : Hautement significative.

Bien que dépendant des variations du et les conditions du milieu de culture tel que ; la température, intensité de la lumière et disponibilité de l'azote, et avec un taux de 0,986% (Falquet et Hurni,2006), et aussi les enrichissements du milieu de culture par Zn, Fe, Se peuvent possible d'enrichir la Spiruline en acides gras (Kiet et *al.* 1994).

### II.1.8. Dosage de chlorophylle a et b



**Figure 39 :** Histogrammes représentatifs de la teneur en chlorophylle a et chlorophylle b des deux spirulines.

La teneur en chlorophylle a est de l'ordre de 120 mg/g et 91.99 mg/g dans la spiruline algérienne et hawaïenne respectivement. Le taux de chlorophylle b descend à 5.44 mg/g pour la spiruline hawaïenne et 86.98 mg/g dans la spiruline algérienne (fig. 39). La couleur verte de la spiruline algérienne témoigne cette richesse.

La teneur en chlorophylle varie en fonction des conditions de culture (zarrouk,1999). Selon Kumar et *al.* (2011), les processus métaboliques et la composition biochimique des cellules micro algales sont affectés par la température du milieu de culture et la température de croissance

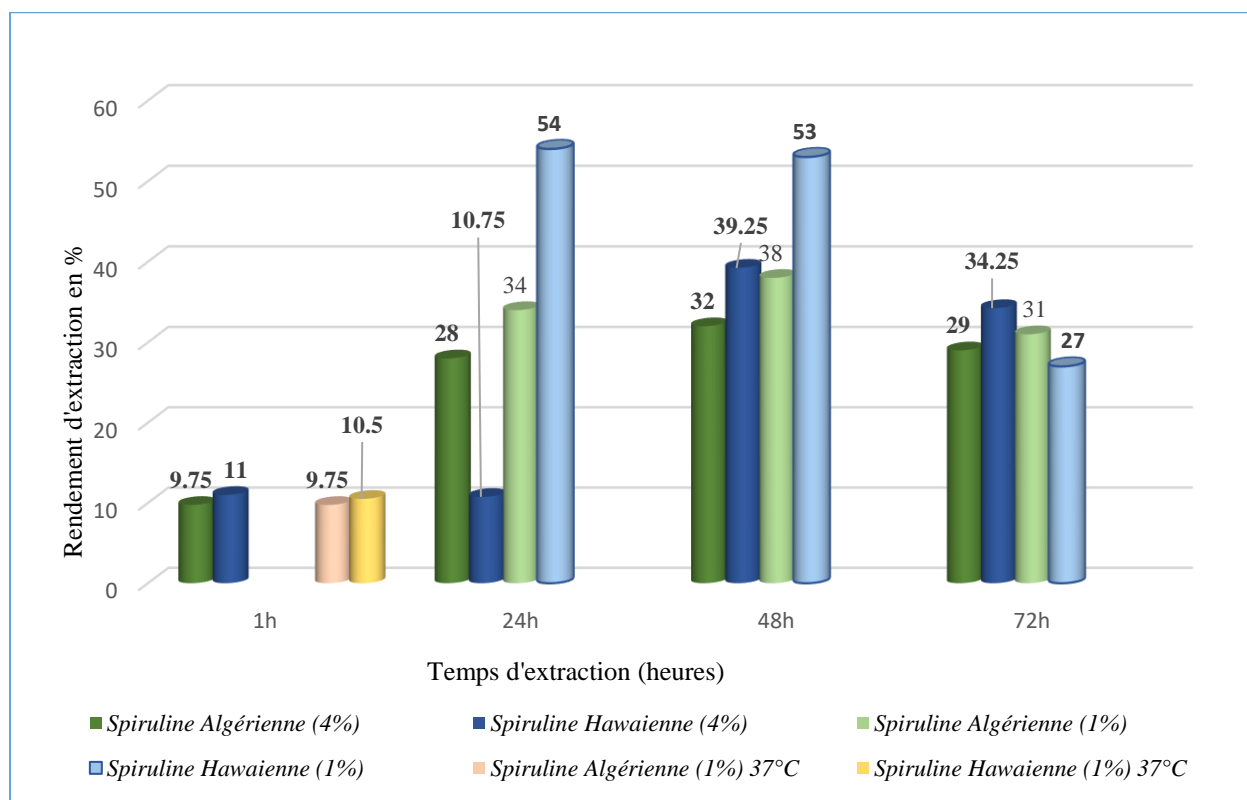
optimale dépend habituellement de la souche. Dans leur étude, à une température de croissance de 35 °C, la plus forte valeur de l'accumulation de Chla étant de 1,54 %.

Le séchage au plein soleil en plein air est le plus rapide et le moins coûteux, mais il a des inconvénients : il risque de bleuir en surface par destruction de la chlorophylle par les ultra-violet ; après broyage ce bleuissement n'est plus perceptible (Jourdan, 2012).

### II.I.8. Extraction de la phycocyanine (des Extractions aqueuse)

Les résultats des extractions aqueuses de la phycocyanine à différentes concentrations et différents temps d'extraction sont représentés dans la figure 40 et la figure 41

En ce qui concerne le rendement d'extraction de la phycocyanine, les résultats obtenus montrent que le meilleur rendement a été enregistré entre 24 à 48 heures d'extraction avec agitation et à température ambiante. Un rendement d'extraction de l'ordre de 54% et 53% a été enregistré dans la spiruline hawaïenne après 24 h et 48 h respectivement et à une concentration de 1% : la concentration de 4% pour la même spiruline enregistre des rendements d'extractions plus faibles de l'ordre de 34% et 38% pour le même temps d'extraction, soit après 24 et 48h respectivement.



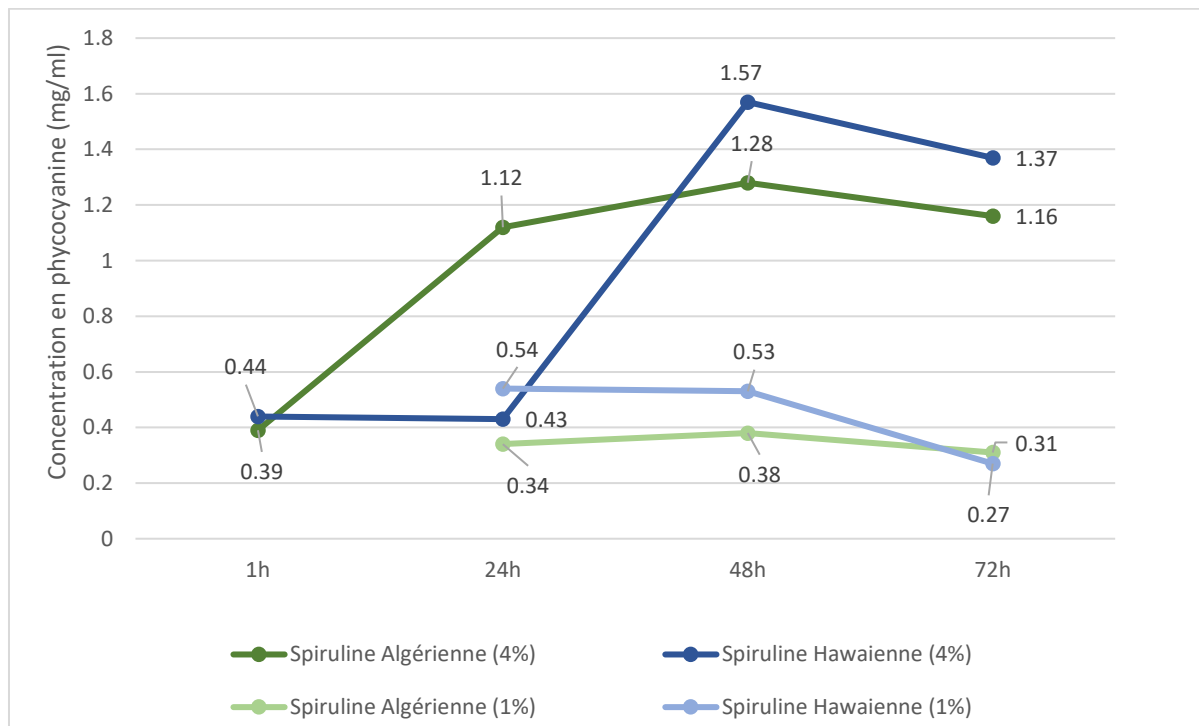
**Figure 40 :** Histogrammes des rendements d'extraction de la phycocyanine

La spiruline algérienne présente un rendement d'extraction de l'ordre de 32% à la concentration de 4% et un rendement de l'ordre de 38% à la concentration de 1%.

Cela signifie qu'une faible concentration (ici 1%), permettant une bonne dissolution de la phycocyanine, donne de meilleurs rendements d'extraction surtout si cette dernière dure 24 à 48h.

Selon Minh et *al.* (2014), Le rendement en phycocyanine peut varier selon la méthode d'extraction. Les extractions à partir de matière fraîche ont permis d'avoir les rendements les plus élevés. La stabilité des extraits est très sensible à la température de conservation, Par ailleurs, les extraits de phycocyanine conservés à 4°C et à des pH plus acides se sont révélés les plus stables et les plus concentrés.

La concentration de la phycocyanine dans les différents extraits est représentée dans la figure 41.



**Figure 41** : Cinétique de l'évolution de la concentration en phycocyanine dans les différents extraits.

Nous remarquons que la spiruline de Hawaï est plus concentrée en phycocyanine (1.51 mg/ml pour l'extrait de la solution de 4% de spiruline après 48h d'extraction et 0.53 mg/ml pour l'extrait de la solution de 1% de spiruline après 48h d'extraction). La spiruline Algérienne est moins concentrée en phycocyanine (1.28 mg/ml pour l'extrait de la solution de 4% de spiruline après 48h d'extraction et 0.38 mg/ml pour l'extrait de la solution de 1% de spiruline après 48h d'extraction).

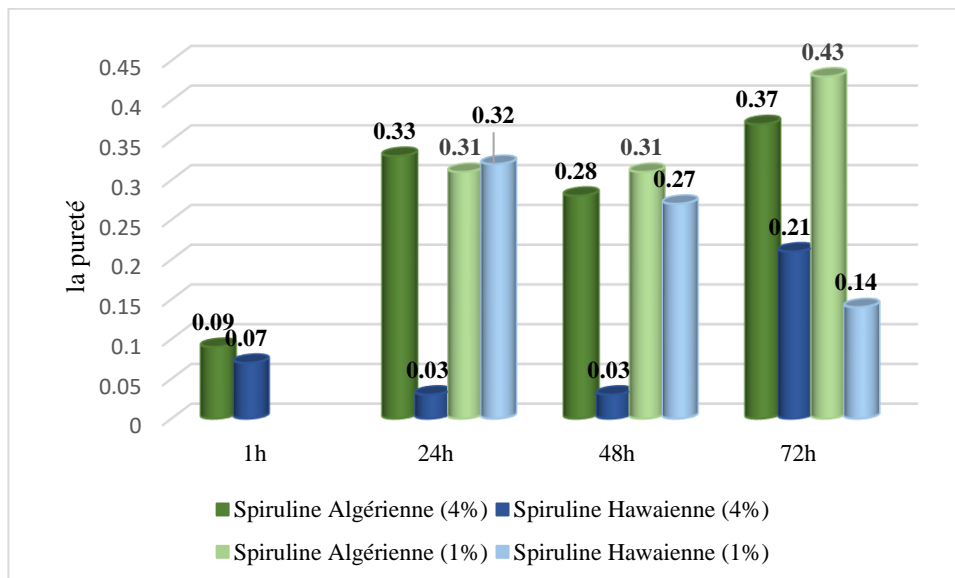
Ainsi, la composition du milieu de culture de la spiruline intervient : il semblerait que le nitrate de sodium  $\text{NaNO}_3$  est nécessaire pour la synthèse des acides aminés, qui composent les protéines et d'autres composants cellulaires comme les chlorophylles et la phycocyanine.

L'intensité lumineuse, la souche ainsi que les conditions de culture semblent avoir un effet sur la teneur en phycocyanine (Ab Dei Baky et *al.*,2004 ; Colla et *al.*,2007).

A partir de la figure n. 41, on remarque que le taux de phycocyanine augmente avec le temps d'extraction jusqu'à 48h, cela est dû au temps nécessaire pour la solubilisation de la spiruline et donc le démasquage de la phycocyanine. Après ce temps, une baisse de la concentration en phycocyanine a été observée. Cela peut être dû à une autolyse de ce pigment sensible.

Selon Lafri et *al.*, (2017), six méthodes d'extraction ont été testées (eau, congélation, sonification, solvant, séparation biphasée et macération par le glycérol). La séparation biphasée semble être la méthode qui donne les extraits les plus concentrés.

Concernant la pureté, seul l'extrait de la spiruline algérienne, 1% de spiruline dans l'eau pendant 72h, a présenté une pureté égale à 0.43 (figure 42).



**Figure 42 :** Histogrammes représentant la pureté des extraits de la phycocyanine

D'après Palomare et *al.*,(2001). Une pureté de C-phycocyanine de 0,7 est considérée comme grade alimentaire, 3,5 comme grade réactive, cependant si elle est supérieure 4, elle est considérée comme grade analytique. Nos valeurs indicatives montrent que cette extraction n'est pas de l'ordre alimentaire.

## II.2. Les résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les deux poudres de spiruline sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 15 :** Résultats des germes recherches dans les deux souches de spiruline.

Echantillon Germe	Spiruline Algérienne (UFC)	Spiruline Hawaïenne (UFC)	Normes européenne, 2019
GAMT à 30°C	<b>24.10<sup>3</sup></b>	<b>3. 10<sup>3</sup></b>	<100000 /g
<i>Coliformes fécaux</i>	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>	<10/g
Anaérobies sulfito- réducteurs	<b>100</b>	<b>70</b>	<100/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>	<100/g
<i>Clostridium perfringens</i>	<b>20</b>	<b>50</b>	<1/g
Salmonelles	<b>Abs</b>	<b>Abs</b>	Abs dans 25g

UFC : Unité formant colonie ; Abs : Absence.

Les résultats des analyses microbiologiques (UFC/g) de la spiruline, comme indiqué sur le tableau 15, montrent une absence totale des germes de genre : Coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*. Cela peut être expliqué du fait des conditions extrêmes de la culture et la production de la spiruline, qui ne favorisant pas la multiplication de ces germes.

On remarque aussi une charge faible en germes mésophiles totaux et des Anaérobies sulfitoréducteurs qui restent dans les normes recommandées (tableau 15).

Cependant la présence des *Clostridium perfringens* dans les deux souches de la spiruline (figure 43) peut affecter la qualité organoleptique et microbiologique de la spiruline.

Les résultats des analyses microbiologique de notre étude ont montré la présence d'une contamination des deux souches de spiruline avec les *C. perfringens*.

L'évaluation de la qualité microbiologique des deux souches de spiruline en poudre commercialisée en Algérie, a montré que les deux spirulines sont jugées de qualité microbiologique dangereuse.

*C. perfringens* est une bactérie sporulée. On la retrouve dans le sol, la poussière, les eaux d'égout et les intestins des animaux et des humains. Une fois consommées, les spores produisent dans le tractus intestinal des toxines (poison) qui peuvent nous rendre malade (Anonyme , 2012).



**Figure 43** : Photographie montrant le résultat de la recherche de *Clostridium perfringens*.

La gastro-entérite débute dans les 6 à 24 heures qui suivent l'ingestion de l'aliment contaminé avec *C. perfringens*. Les symptômes les plus fréquents sont la diarrhée aqueuse et les crampes abdominales. Bien qu'elle soit généralement d'intensité légère, l'infection peut entraîner une douleur abdominale, un ballonnement abdominal (distension) engendré par des gaz, une diarrhée grave, une déshydratation et une baisse importante de la tension artérielle (Thomas et Boyce, 2019).

Des bactéries du genre *Clostridium* ont été identifiées dans des compléments alimentaires vendus en Europe et contenant de la spiruline : les trois lots testés, issus d'un même fabricant, excédaient Les normes admises dans l'alimentation, deux présentant des teneurs supérieures à 107 UFC/g (Hoekstra, 2011).

Cause d'entérite et d'empoisonnement de la nourriture par les toxines. Elle tolère un pH maximum de 8,5, optimum 6,0-7,6. Détruit à 70°C en 30 à 60minutes. Spores détruites à 90°C en 30 minutes (chaleurs humide) (Fox, 1999).

Une étude menée sur 31 échantillons commerciaux de spiruline vendus sur le marché grec a mise en évidence des contaminations bactériennes (Vardaka, 2016): 469 espèces bactériennes hétérotrophes ont été mises en évidence, dont certaines peuvent être pathogènes parmi les genres identifiés *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Fusobacterium*, *Enterococcus*. La viabilité de ces espèces n'a pas été évaluée. Les lieux de production des échantillons étaient très variés.

### II.3. Les résultats de l'antibiogramme

Les résultats de l'activité antibactérienne des antibiotiques et de la spiruline ainsi que les extraits de la phycocyanine ont conduit aux résultats suivants, notés sur *Escherichia coli* seulement (pour les autres germes aucune activité antibactérienne n'a été prouvée) :

**Tableau 16 :** Diamètres d'inhibition de *E. coli*

Substance testée	Diamètre d'inhibition (mm)
Fosfomycin SD205-1CT	<b>25 – 35</b>
Nalidixic acid NAL30µg	<b>25 – 35</b>
Extrait phycocyanine 1%	/
Extrait phycocyanine 4%	/
Solution spiruline 1%	/
Solution spiruline 4%	<b>25 mm</b>
Solution spiruline 25%	/
Solution spiruline 50%	/
Solution spiruline 75%	/

En testant l'activité des extraits et de la spiruline sur les cinq espèces bactériennes, seule la solution de spiruline à 4% a présenté un effet inhibiteur. *E. coli* étant sensible à la solution de spiruline à 4% dans l'eau avec un diamètre de 25mm. Cependant des solutions de spiruline à 25%, 50% et même 75% n'ont présenté aucune activité antibactérienne. Cela peut être due à la forte concentration qui a empêché la solubilisation des principes anti *E.coli*.

D'après Lahoucine (2019) Les résultats de l'activité antibactérienne, montre que la spiruline exerce une activité inhibitrice vis-à-vis *E. coli* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres d'inhibition de 17 mm et 18mm respectivement. L'effet inhibiteur de la spiruline était plus important contre la souche *Staphylococcus aureus* par rapport à la souche *E. coli*.

# CONCLUSION

---

Notre travail a porté sur une comparaison des résultats des analyses physicochimiques et des analyses microbiologiques de deux spirulines en poudre commercialisées en Algérie et ce dans le but d'évaluer la qualité alimentaire en termes de composition en nutriments majeurs : taux d'humidité, matière grasse, protéines, cendres, et le degré de contamination par la recherche des germes aérobies mésophiles totaux, Les anaérobies sulfite-réducteurs, les coliformes fécaux et les germes du genre *Salmonella*, *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus*. Ainsi nous avons testé différentes façons d'extraction de la phycocyanine et étudier l'activité antibactérienne de différentes solutions et extraits de la spiruline.

L'étude de la qualité physicochimique a révélé une différence significative entre les deux spirulines dans la teneur en protéines, la spiruline de Hawaï présente un taux de protéines de  $33,200 \pm 1,060$  % et celle de Tamanrasset  $27,663 \pm 0,549$  % de protéines. Le taux de cendres présente aussi une différence significative :  $8,455\% \pm 0,525$  pour la spiruline Algérienne et  $10,225 \pm 0,518$  % pour la spiruline hawaïenne. Le pH des deux souches présente une différence hautement significative. La teneur en matière grasse et en humidité étant presque la même.

La spiruline algérienne est plus riche en chlorophylle : 178.97 mg/g contre 126.17 chez la spiruline de Hawaï.

En ce qui concerne le rendement d'extraction de la phycocyanine, un rendement d'extraction de l'ordre de 54% et 53% a été enregistré dans la spiruline hawaïenne après 24 h et 48 h respectivement et à une concentration de 1% : la concentration de 4% pour la même spiruline enregistre des rendements d'extractions plus faibles. Nos extraits ne présentent pas une pureté de l'ordre alimentaire (un maximum de 0.4).

L'étude de la qualité microbiologique a révélé des teneurs en *Clostridium perfringens* dépassant les normes européennes (2019), ce qui rend les deux spirulines d'une qualité microbiologique non satisfaisante.

L'étude de l'activité antibactérienne a montré que *Escherichia coli* était sensible à un traitement avec la solution aqueuse à 4% de spiruline de Hawaï. Les autres extraits et solutions n'ont exercé aucune activité antibactérienne sur les germes testés.

A la fin de cette étude, la variation de la composition de la spiruline peut être liée à ces différents paramètres : elle varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi

---

par le taux d'ensoleillement et par le fait que certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras (Goulamabasse,2018).

En perspectives :

Nous pouvons dire que la composition de la spiruline pour une même souche peut être très différentes en fonctions des conditions citées dans le paragraphe précédent.

Un contrôle de sa culture dans des conditions déterminées et l'études de sa qualité physicochimique dans les mêmes conditions serait souhaitable pour pouvoir déterminer les conditions de culture, de récolte ou de séchage déterminant un composant déterminé.

La Spiruline ne remplace pas les aliments caloriques tels que le manioc, le riz, le blé, la pomme de terre ou le maïs, mais c'est un ingrédient idéal de la sauce protéinée.

Des dizaines de milliers d'enfants à travers le monde sont traités avec succès avec la spiruline. Cette échelle est sans aucun doute une preuve suffisante de son efficacité et de son innocuité en situation réelle (Hug et Denis von der, 2011).

Enfin, il existe de nombreuses possibilités de joindre la spiruline à la nourriture. En Inde, par exemple, des biscuits et des bonbons à la spiruline ont été développés localement par Antenna Technologies et sont particulièrement appréciés par des milliers d'enfants (Heierli, 2007). La mise au point de nouveaux produits intégrant la spiruline représente certainement la meilleure solution.

# Références Bibliographique

## A

- Abd el baky, HH., E. b. (2004). Production of antioxydant by the green alga *Dunaliella salina*. *Int. J. Agri. Biol*, 1037, 49-57.
- Abdelhadi, M. (2017, juin). Production de la Spiruline en Algérie. Université Abderrahmane MIRA, Bejaïa.
- AFFA. (1982). Association française pour l'algologie appliquée, Actes du premier symposium sur la spiruline *Spirulina platensis*(Gom). . Geitler de l'AFAA.
- Ahounou, M. N. (2018, février 02). La spiruline : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. 143p.Thèse de doctorat. UFR de médecine et de pharmacie : université de Rouen.
- AL ghanayem, A. (2017). Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Extracts Against Certain Pathogenic Bacteria and Fungi. *Advances in Bioresearch*, 8(6). Récupéré sur <http://www.soeagra.com/abr.html>
- ALL, M.G; Dankoko, B;Badiane M., EhuaE., Kuwakuwi N., (1999). La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir. 46. Dakar, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Sénégal.
- Amuzu, A. T., C., B. D., & Calamari, A. (1994). Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain. FAO. rome.
- Andreani, C. G. (2011). Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, XIII, 8-9. Faculté de Médecine Paris.
- Anonyme. (2020). Le contrôle granulométrique des poudres pharmaceutiques : Récupéré sur <https://www.doc-etudiant.fr/Sciences/Pharmacie/Cours-Le-contrôle-granulometrique-des-poudres-pharmaceutiques-376052.html>
- Anonyme. (2021). latribune.fr. Récupéré sur <https://region-aura.latribune.fr> , 2021
- Anonyme. (2022). Récupéré sur <https://www.agro-media.fr> 2022
- Anonyme 1 <https://www.bioutils.ch/protocoles/21-les-pigments>. (s.d.). BiOutils: l'interface de l'Université de Genève pour soutenir l'enseignement des Sciences de la Vie. Récupéré sur <https://www.bioutils.ch/protocoles/21-les-pigments>.
- Anonyme. (2012) : Récupéré sur (<https://www.quebec.ca/agriculture-environnement-et-ressources-naturelles/eau-potable/contamination-de-l-eau-potable-d-un-puits/e-coli-coliformes-fecaux-ou-enterocoques>)
- Antenna, f. (2018). Contre la malnutrition en Afrique.

- Aouir, A. (2017). Extraction des composés bioactifs de la spiruline par le champ électrique pulsé. Ecole national superiere agronomique-Elharach-Alger.

## B

- Babadzhanov , A., Abdusamatova , N., Yusupova, F., Faizullaeva, N., Mezhlumyan, L., & Malikova, M. (2004). Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. 40(3), 276-279. Chemistry of Natural Compounds; Uzbekistan.
- Baddi, N., & Menadi, M. (2014). memoire de fin d'etudes. Ouargla, université kasdi merbah de ouargla.
- Balloni, W., Tomaselli, L., Giovannetti, L., & Margheri, M. (1980). biologia fondamentali del genere spirulina. 49. roma, italie: prosvite della coltura di spirulina.
- 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, 10-11. (Manuel, Éd.)
- Becker E.W. (1995). Microalgae biotechnology and microbiology. Cambridge Univ. Press., 293. Cambridge, U.K.
- Bedra, H., & Bettayab, S. (2021). Contribution à l'étude de la culture d'*Arthrospira platensis* à base de NPK 15-15-15 en vue d'améliorer sa composition biochimique isolée à partir de la région de Biskra. memoire de fin d'etude. algerie.
- Belay A., (1997). Mass culture of *Spirulina* outdoors: the Earthrise Farms experience. In Vonshak, A. (ed.), *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) Physiology, Cell Biology and Biotechnology, London: Taylor & Francis, pp.131-158.
- Belay, A. (2002). The potential application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. *J Am Nutraceutical Assoc*, 5, 27-48.
- Belay, A. (2007). *Spirulina* (*Arthrospira*): production and quality assurance in *Spirulina* in Gershuin ME et Belay A. *Human Nutrition and Health*.
- Benahmed Djilali A, Benamara S, Saidi N, Meksoud A. (2011). Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders. *Powder Technology* 208(3):725-730.
- Ben Slimane, K., Sadok, S., Ben Ouada, H., & Gouja, I. (2015). Optimisation de la méthode d'extraction et de stabilisation de la phycocyanine utilisant la méthodologie de surface de réponse "RSM". *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, 42.
- Bennett, A., & Bogorad, L. (1973). Complimentary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol*, 58(2), 419-435.

- Benoît, L. L. G. L. (2015). Les incroyables vertus de la spiruline. Éditions Jouvence.
- Bensehaila, S., Doumandji, A., Boutekrabt, L., Manafikhi, H., Peluso, I., Bensehaila, K., ... & Bensehaila, A. (2015). The nutritional quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset, Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 14(19), 1649-1654.
- Blanchot, J. (2008, avril 28-30). Colloque International, "spiruline et développement". Tuoar, Madagascar.
- Borchers, A. T., Belay, A., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2007). *Spirulina and Immunity in Spirulina in Human Nutrition and Health*. (C. Press, Éd.) Gershwin & Belay (ed.).
- Bourgeois, C., & Leveau, J. (1991). *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires*, 2ème édition, 3. Le Contrôle Microbiologique Lavoisier, Tec. & Doc., APRIA Ed. Paris.

## C

- Casal, A. (2019). Aliment Idéal et le plus Complet de Demain, Site web, Récupéré sur [www.spirulinefrance.fr](http://www.spirulinefrance.fr).
- Chadwick, R. H. (2003). *Functional Foods*. (Vol. 20). New York, NY, USA.: Springer Science & Business Media.
- Chamorro, G., Salazar, M., Favila, L., & Bourges, H. (1996). Farmacología y toxicología del alga *Spirulina*. *Rev Invest Clin*, 389-399.
- Charpy, Loïc., Langlade, M., & Alliod, R. (2008 aout). *La Spiruline peut-elle être un Atout pour la Santé et le Développement en Afrique ?* Institut de recherche pour le développement, 1-16. Marseille.
- Cheftel J.-C., Cheftel H., (1979), *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*, V. 2. Edition Apria, Paris, 238.
- Chine, Y., & Kouici, M. (2017). *Evaluation de l'activités antimicrobienne et hypocholestérolémiant de la spiruline (Arthrospira Platensis)*. mémoire de master Phytothérapie et Santé. Université de BLIDA 1.
- Ciferri, O. (1983). *Spirulina, the edible microorganism*. Récupéré sur *Microbiological reviews*.
- Clement, G. (1975). Production et constituants caractéristiques des algues *Spirulina maxima* et *platensis*. *Annale de la nutrition alimentaire*, 29, 477-487.

- Colla L.M., F. E. (2007). Antioxidant properties of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* cultivated under different temperature and nitrogen regimes. *Brazilian archives of biology and technology*, 50(1), 161-167.
- Colla, Bertolin, T., & Costa, J. (2004). Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. 59-55. . *Z Naturforschung C J Biosci*.
- Cruchot, H. (2008). La spiruline, bilan et perspectives. Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, faculté de médecine et de pharmacie de Besançon, Université de Franche, France.

## D

- Dansou, D. K. (2002). Développement de la culture de la spiruline (*Spirulina platensis*) ET valorisation de celle-ci au Burkina Faso. Université de Ouagadougou.
- Darcas, C. (2004). Spiruline and malnutrition. *Archives de Pédiatrie : Organe Officiel de la Société Française de Pédiatrie*, (11(5)), 466-476.
- Dargent, L. (2016). *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. 175. Consulté le 2016
- Desmorieux, H., & Hernandez, F. (2004). Biochemical and physical criteria of *Spirulina* after different drying processes. In *Proceedings of the 14th International Drying Symposium (IDS)*. 900-907. Sao paulo, Brazil.
- Durackova, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *physiol. Res.*, 59, 459-469.
- Durand-Chastel-H. (1993). La Spiruline, algue de vie. 7-11.

## E

- El-Sheekh M.M., Fathy A.A., (2009). Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of *Chlorella vulgaris* Beijerinck grown under auto and heterotrophic conditions. *International Journal of Botany*, vol. 5, p. 153-159
- Elyah, A. (2003). Quel avenir pour la spiruline. 3. Université de Montpellier II, Institut National des Sciences et Techniques de la Mer.
- Eriksen, N. (2008). Production of phycocyanin ea pigment with applications in biology biotechnology, foods and medicine. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 80, 1-14.
- Espirad E., (2002), Introduction à la transformation industrielle des fruits. Edition Technique et Documentation, Paris, 360.

## F

- Falquet, J., & Hurni, J. (1986). Spiruline : aspects nutritionnels flamant vert.
- Falquet, J. (1996). Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologie, 1-16. Genève,,Suisse.
- Falquet, J., & Hurni, J. (2006). The nutritional aspects of Spirulina. Antenna Technologies, [www.antenna.ch/documents/](http://www.antenna.ch/documents/). 1-25p.
- FAO. (2006). Le développement de la filière spiruline ou « dihé » au service de la population et des personnes vulnérables au Tchad.
- Fox, R. (1999, juillet 22). La spiruline, technique, pratique et promesse. 1, 224. france: Edisud.

## G

- Gatugel, A., Barsanti, L., & Tredici, M. (2000). Harvest of *Arthrospira platensis* from LakeKossorom (Chad) and its household usage among the Kanembu. *Journal of Applied phycology*, 12(3), 493-498. doi: DOI:10.1023/A:1008177925799
- Goulamabasse, T. R. (2018). Spiruline : Effets thérapeutiques et lutte contre la malnutrition à Madagascar (Doctoral dissertation, Thèse d'exercice, Faculté de Pharmacie de Lille).
- Grossman, A. B. (2001). Tracking the light environment by cyanobacteria and the dynamic nature of light harvesting. *J.Biol. Chem.*, 276, 11449-11452.
- Grossman, AR, Schaefer, MR, Chiang, GG, Collier, JL,. (1994). Phycobilisome and phycobiliprotein structure. In: Bryant, DA (Ed.) . *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, 139-216.

## H

- Habib M, A. B. (2008). A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO.
- Hajati, H., & Mojtaba, Z. (2019). *Spirulina platensis* in poultry nutrition. Scholar publishing, 20. Cambridge.

- Harriman, G., Smith, P., Horne, M., Fox, C., Koenig, s., Lack, E., . . . Hayashi, K. (1996). Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina*. *Journal of Natural Products*. 83-87.
- Heierli, U., & Von Der Weid, D. (2007). Sustainable approaches to combat malnutrition. Small scale production and marketing of spirulina. Berne (Switzerland): SDC, Employment and Income Division, 1-84.
- histoire de la spiruline. (s.d.). Récupéré sur planete spiruline : <http://www.planete-spiruline.fr/la-spiruline/historique/>
- Hoekstra, D. T., Volschenk, H., Collins, M., & McMaster, L. D. (2011). An investigation of *Clostridium* species present in nutraceutical preparations of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) for human consumption. *Journal of Applied Phycology*, 23(4), 777-787.
- Hoseini, S.M. ; Khosravi-Darani, k. and Mozafari, M.R. (2013). Nutritional and Medical Applications of *Spirulina* Microalgae. *PubMed, Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(8), 1231-1237. doi:10.2174/1389557511313080009
- <https://region-aura.latribune.fr/>, 2. (2021).
- <https://www.spirulinedeshautsdefrance.com/spiruline-riche-proteines>. (s.d.).
- Huët, M. A., & Daneshwar, P. (2017, Nov-Dec, ). Bioremediation of heavy metals from aquatic environment through. 5(6), pp. 14-23. Department of Agricultural and Food Science, Faculty of Agriculture, University of Mauritius, Réduit, Mauritius. doi:10.7324/JABB.2017.50603
- Hug, C., & von der Weid, D. (2011). La spiruline. Antenna technologies. disponible sur: <https://www.antenna.ch/wp-content/uploads/2017/04/Spiruline-Bilan-et-perspectives.pdf> (dernier consultation septembre 2020).

## I

- Idakiev, H., & Baecker, S. (2018). Extraction of proteins and active substances from microalgae. *International News on Fats, Oils, and Related Materials*, 22-25.
- Iwata, K., Inayama, T., & Kato, T. (1990). effects of spirulina platensis on plasma lipoprotein lipase activity in fructose induced hyperlipidemic rats. *J.Nutr.Sci.Vitaminol*, 36, 165-171.
- Iyer, UM, Dhruv, SA, Mani, IU, . (2007). Spirulina and its therapeutic implications as a food product. In: Gershwin, E., Belay, A. (Eds.), *Spirulina in Human Nutrition and Health*. CRC Press, Taylor and Francis Group., 51-70.

**J**

- Jarisoa, T. (2005). Adaptation de la spiruline du sud de madagascar a la culture en eau de mer. 188.
- Jourdan. (1999). Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal. Publication de 1999.
- Jourdan. (2006). Cultivez votre Spiruline. Edt. Antenna Technologie.
- Jourdan. (2012). « Cultivez votre spiruline », manuel de culture artisanale.
- Jung, F., Kruger-Genge, A., & Waldeck, P. K. (2019). Spirulina platensis, a super food? journal of cellular biotechnology, 5, 43-54. doi:10.3233/JBC-189012

**K**

- Kjeldahl J., (1883) A new method for the estimation of nitrogen in organic compounds. Z Anal Chem., vol. 22, p.366
- Kermiche, A., & koudri, O. (2021). La culture et les intérêts nutritionnelle et thérapeutique de la spiruline Arthrospira platensis. Biskra, Université Mohamed Khider de Biskra.
- Kiet Pham Quoc, Dubacq J.-P, Demandre C et Mazliak P. (1994). Comparative effects of exogenous fatty acid supplementations on the lipids from the cyanobacterium Spirulina platensis Plant physiology and biochemistry. 32(4), 501-509.
- Kim, C. J., Yoon, S. K., Kim, H. I., Park, Y. H., & Oh, H. M. (2006). Effect of spirulina platensis and probiotics as food additives on growth of shrimp fenne rapenoeus chinensis. Journal of microbiology and biotechnology, 16, 1248-1254.
- Kuashik, P., & Chauhan, A. (2008). In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of Spirulina platensis. Indian Journal of Microbiology, 48(3), 348-352.
- Kumar M., Kulshreshtha J., Singh G.P., (2011). Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium Spirulina platensis at different light intensities and temperature. Brazilian Journal of Microbiology, vol. 42, p.1128-1135.

**L**

- Lafri, I. (n.d.). Optimisation des conditions d'extraction de la phycocyanine de la spiruline SP. Université Blida1-Saad Dahlab.

- Lafri, I., Jemni, M., Bensehaila, S., & Boutekrabt, L. (2017). Evaluation of methods of extracting phycocyanine and yield from *Spirulina platensis*. *AgroBiologia*, 7(2), 623-632.
- Lahoucine, A. (2019). Etude de l'impact de l'incorporation de la Spiruline sur la qualité organoleptique et physicochimique de la Mayonnaise. Mémoire de master , Mostaghanem.
- Laib, a. (2013). Effet d'incorporation de la spiruline sur les qualités biochimiques et nutritionnelle du sirop de dattes "ROB" obtenu à partir de la variété Degla Beida. Mémoire de master. UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA.
- laspirulinedesvikings.fr. (s.d.). Récupéré sur <https://www.laspirulinedesvikings.fr/les-bienfaits-de-la-spiruline/>
- Lavoie I., Laurion I., Warren A., Vincent W.F ; (2007). Les fleurs d'eau de Cyanobactéries, revue de littérature. INRS rapport, XIII (916), 124.
- Lesca, A.-M. (2013). Schéma de la structure d'une cyanobactérie.
- Liang, S., Liu, X., Chen, F., Chen, Z., (2004). Current microalgal health food R & D activities in China. *Hydrobiologia*, 512, 45-48.
- Libres, R. É. (2017, octobre 23). les Ressources Libres du projet AbulEdu . Récupéré sur <http://data.abuledu.org/wp/?terms=Cyanobact%C3%A9ries>
- Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R., (1985). Detrmination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf in different solvents. *Biol.Soc. Trans.*, vol. 11, p. 591-592.
- Lounici, s. (2010, novembre). caractirisation de la spiruline : spiruline htm optimisation de ses cindition de culture et application industrielle. 131p. blida, des sciences agronomiques, ALGERIE.
- Louvel, S. (2019, Juillet 15). La spiruline : intérêts humanitaires et thérapeutiques. thèse de doctorat. marseille, faculte de pharmacie.

## M

- M'baye B.K., Lô B., Bassene E., (2011). Etude quantitative de quelques pigments de la Spiruline cultivée en Mauritanie en vue d'une valorisation nutritionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, vol. 5, n° 5, p. 2035-2038.
- Manet, A. (2016, juin 27). La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. 8. Grenbol, Pharmacie, FRANCE.

- Manirafasha, E., Ndikubwimana, T., Zeng, X., Lu, Y., Jing, K., (2016). Phycobiliprotein: potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochem. Eng. J.*, 109, 282-296.
- Martínez-Galero, E., Pérez-Pastén, R., Perez-Juare, A., Fabila-Castillo, L., Gutiérrez-Salmeán, G., & Chamorro, G. (2016). Preclinical antitoxic properties of Spirulina (*Arthrospira*). 1345-1353. *Pharmaceutical biology*.
- Mazokopakis, E. E., Starakis, I. K., Papadomanolaki, M. G., Mavroeidi, N. G., & Ganotakis, E. S. (2014). The hypolipidaemic effects of Spirulina (*Arthrospira platensis*) supplementation in a Cretan population: a prospective study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(3), 432-437.
- Mehrez, A. (2021). Contribution de l'étude de l'activité biologique de phycocyanine extrait d'*Arthrospira platensis* (spirulina FOXBEHATAM). Université echahid hamma lakhdar d'el-oued, ALGERIE.
- Minh, N., Chari, V., Caro, Y., Dufossé, L., & Petit, T. (2014, November). Etude comparative des méthodes d'extraction de la phycocyanine de *Spirulina platensis*. In 4ème Colloque QualiREG, le réseau scientifique et technique des acteurs agroalimentaires de l'océan Indien

## N

- Naturalfield. (2017). Phycocyanine spiruline - Pigment naturel, bonne solubilité dans l'eau. Récupéré sur natural field: <http://www.nfnatural.com/info/phycocyanin-spirulina-natural-pigment-good-w-19338484.html>
- Niangoran N'goran, U. (2017). Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse. 39. (P. Sabatier, Éd.) Université Toulouse 3.
- Nilay Seyidoglu, S. I. (2016, mai 10). A Prominent Superfood: *Spirulina platensis*. chapitre 1, pp. 3-14.

## P

- Palla, J., & Busson, F. (1969). Etude des caroténoïdes de *Spirulina platensis* (Gom.).
- Parikh, P., Mani, U., & Lyer, U. (2001). Role of *Spirulina* in the control of glycemia and lipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Medicinal Food*, 4, 193-199.

- Pierlovisi, C. (2007). L'Homme et la Spiruline : Un avenir commun ? Composition chimique. intérêts alimentaires et activités biologiques., 1001 - 1006. (R. M. Suisse., Éd.) Paris (162), Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques : Prise en charge.
- Pulz O, & Gross W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied.

## Q

- Qureshi, M. A., Ali, R. A., & Hunter, R. L. (1995). Immunomodulatory effects of *Spirulina platensis* supplementation in chickens. In Western Poultry Disease Conference. California, USA.

## R

- Ramirez, D., Gonzalez, R., Rodriguez, S., & Ancheta, O. (2002). Inhibitory effects of *Spirulina* in zymosan-induced arthritis in mice. *Mediators of Inflammation* (11), 75-77.
- Rito-Palomares, M., Nunez L., and Amador D., (2001). Practical application of aqueous two-phase systems for the development of a prototype process for C-Phycocyanin recovery from *Spirulina maxima*, *J. Chem. Tech. Biotech.*, 76: 1273–128
- Romay, C. H., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D. Rimbau V. (2013). C-Phycocyanin: a Biliprotein with Antioxidant Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein & Peptide Science*, 207.

## S

- Samaranyaka, AGP, Li-Chan, ECY,. (2011). Food-derived peptidic antioxidants: a review of their production, assessment, and potential applications. *J. Func Foods*, 3, 229-254.
- Scheldeman, P. B. (1999). *Arthrospira* ('Spirulina') strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacers (Vol.172(2)). doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13471.x.
- Seghir M, Benkhirdine A, Benammar L,. (2020). culture et production de la spiruline *arthrospira platenisis* dans la region de M'sila et l'extraction phycocyanine. M'sila: Univrsite mouhamed boudiaf.
- Sguera, S. (2008). *Spirulina platensis* et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, 162. Université Henri Poincaré Nancy.

- Sloth, JK, Wiebe, MG, Eriksen, NT,. (2006). Accumulation of phycocyanin in heterotrophic and mixotrophic cultures of the acidophilic red alga *Galdieria sulphuraria*. *Enzym. Microb. Technol*, 38, 168-175.
- SPIRULINE DES ILES D'OR. (s.d.). Récupéré sur <https://spiruline-des-iles-dor.com/spiruline.ch>. (s.d.). Récupéré sur la spiruline swiss made : <https://spiruline.ch/>
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* (101), 87-96.
- Stadnichuk, IN, Tropin, IV,. (2017). Phycobiliproteins: structure, functions and biotechnological applications. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 53, 1-10.

## T

- Tabutin, I., Gouesin, P. Y., & Mollo, P. (2002, avril). la spiruline contre la malnutrition. Madurai- Inde.
- Tadros, M., Woodrow, S., Mbuthia, P., & Beverly, J. (1988). Characterization of *Spirulina* biomass for CELSS diet potential. *Manipulating cyanobacteria.*, 40-44. Department of Biology: Alabama A&M University.
- Takai, Y., Hosoyamada , Y., & Kato, T. (1991). Effect of water soluble and water insoluble feaction of spirulina over serum lipids and glucose resistance of rats. 44, 273-277.
- Théodore, Z. H. (2017). Optimisation de la culture de la sporuline en milieu contrôlé: éclairage et estimation de la biomasse . doctoral dissertation, Toulouse3.
- Thomas G. Boyce, MD, MPH. (2019). Gastro-entérite, Intoxication alimentaire par *Clostridium perfringens*, University of North Carolina School of Medicine.
- Toudert, M., & Bouzidi, O. (2020). Intérêt de l'utilisation de la spiruline dans les aliments fonctionnels. Bouira, UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA, Algérie.

## U

- Usharani, G., Saranraj, & Kanchana, D. (2012). *Spirulina* cultivation: a review. *Int J Pharm.* 3(6).

## V

- Van, N., & Stanier. (1962). The Cyanobacteria. In: Bergey's manual of determinative bacteriology.
- Vardaka, E., Kormas, K. A., Katsiapi, M., Genitsaris, S., & Moustaka-Gouni, M. (2016). Molecular diversity of bacteria in commercially available “Spirulina” food supplements. PeerJ, 4, e1610.
- Vicente, N. (2012, Mars 22). La Spiruline pour la Nutrition et la Santé, pp. 1-4., J. L. (2015). Spiruline, l’algue bleue de santé et de prévention. Chapitre 3/Cancer et Spiruline, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil, 101.
- Vonshak, A. (1997). *Spirulina Platensis Arthrospira*. *Spirulina Platensis (Arthrospira) Physiology, Cell-Biology And Biotechnology*, 1-17. London.

## W

- Watanuki, H., Ota, K., Tassakka, A., Kato, T., & Sahai, M. (2006). Immunostimulant effects of dietary spiculina platensis on carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*. 157-163.
- Wu, L. H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of Spirulina and Chlorella water extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4207-4212.

## Y

- Yamamoto, C., Fujiwara, Y., & Kajia, T. (2006). The biological effects of depolymerized sodium spirulan and sulfated colominic acid on vascular cells are beneficial in preventing atherosclerosis. *Journal of Health Science* (52), 205-210.
- Yougbare, I. (2007). Impact de la Prise Quotidienne de Spirulina platensis sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l’Immunodéficience à Burkina Faso. Mémoire pour l’Obtention d’un Diplôme d’Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, 11. Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, BURKINA FASO.

## Z

- Zarrouk, c. (1966). Contribution to the cyanophyceae study: influence various physical and chemical factors on growth and photosynthesis of *Spirulina maxima*. Paris, des sciences., FRANCE.
- Zilinskas, BA, Greenwald, LS,. (1986). Phycobilisome structure and function. *Photosynth.Res.*, 10, 7-35.

# Annexe

## Annexe 01

**Tableau : Matériel non biologique utilisée durant toutes les expérimentations**

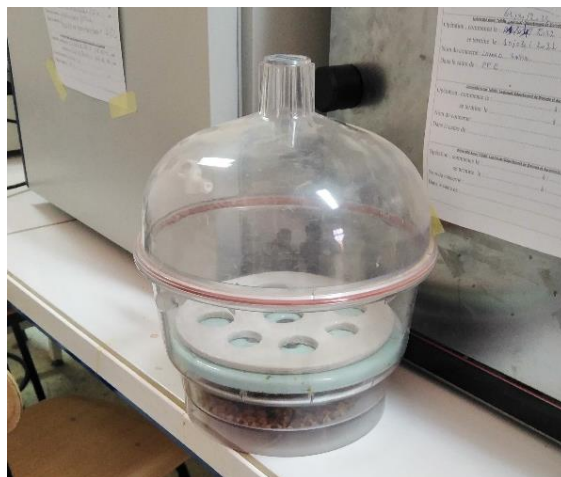
Appareils	Verrerie et accessoire	Réactifs et produit.
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Agitateur.</li> <li>-Balance analytique.</li> <li>-Bec-Benzen.</li> <li>-Etuve.</li> <li>-Etuve réglable à 103°C.</li> <li>-L'haute chimique.</li> <li>-Plaque chauffante.</li> <li>-Spectrophotomètre UV.</li> <li>-Réfrigérateur</li> <li>-Four à moufle.</li> <li>-Un Ph mètre.</li> <li>-Dessiccateur.</li> <li>-Distillateur.</li> <li>-Centrifugeuse.</li> <li>-Appareil Soxhlet.</li> <li>-Evaporateur.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Pipette pasteur.</li> <li>-Matras.</li> <li>-Béchers (petits etgrands).</li> <li>-Boites de pétrie.</li> <li>-Ciseaux.</li> <li>-Entonnoir en verre.</li> <li>-Eprouvette de 100ml.</li> <li>-Erlenmeyer.</li> <li>-Fioles en verre.</li> <li>-Flacons en verre.</li> <li>-Gants à usage unique.</li> <li>-Papier filtre.</li> <li>-Papier wattman</li> <li>-Papiers aluminium.</li> <li>-Pince stérile.</li> <li>-Pipettes graduées.</li> <li>-Tubes à essais.</li> <li>-Creuset en platine.</li> <li>-Burette +support.</li> <li>-les cuves en plastique.</li> <li>-cuve en Quartz</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Acéton 90%</li> <li>-Acide chlorhydrique (HCL).</li> <li>-Hexan</li> <li>- solution de (NAOH)</li> <li>-sulfate de potassium</li> <li>-sulfate de cuivre</li> <li>-Acide Sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré.</li> <li>-Acide borique augmentée d'indicateurs colorés, le rouge de méthyle.</li> <li>-Eau de javel.</li> <li>-Eau distillée.</li> <li>-Eau physiologique 0,9%.</li> </ul>



**Spectrophotomètre** (JENWAY 6405 UV-vis. Spectrophotometre) à gauche et (Shimadzu UV-1601 UV-VIS Spectrophotometre) à droite.



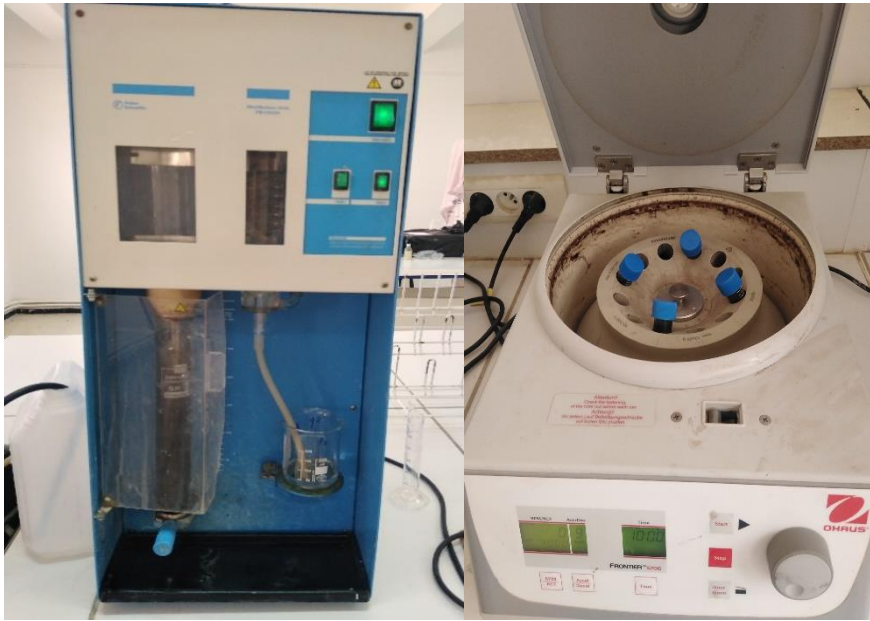
Four à moufle à gauche , Tamiseur à droite



Dessiccateur



L'appareil Soxhlet à gauche, Evaporateur à droite.



Distillateur à gauche, Centrifugeuse (OHAUS-Frontier™ 5706) à droite.

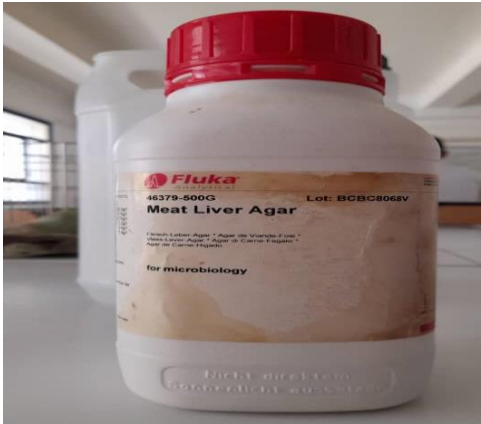
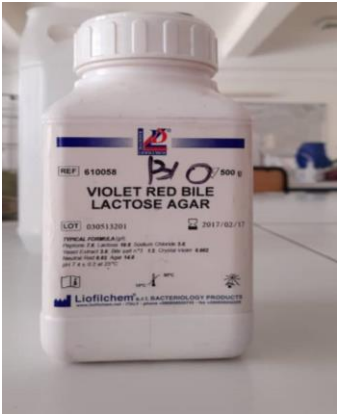


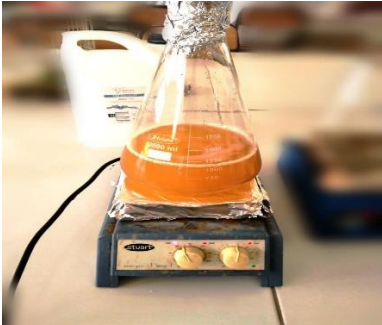
### ➤ Granulométrie

Classification des poudres :

- Poudre grossière : dont le minimum 95% en masse passent à travers un tamis numéro 1400 et dont au maximum 40% en masse passent à travers un tamis numéro 355.
- Poudre modérément fine : dont le minimum 95% En masse passent à travers un tamis numéro 355 et dont au maximum 40% en masse passent à travers un tamis numéro 180.
- Poudre fine : dont le minimum 95% En masse passent à travers un tamis numéro 180 et dont au maximum 40% en masse passent à travers un tamis numéro 125.
- Poudre très fine : dont le minimum 95% En masse passent à travers un tamis numéro 125 et dont au maximum 40% en masse passent à travers un tamis numéro 90.

## Annex 02

## Preparation des milieux

milieu	Préparation
 <p style="text-align: center;"><b>Viand Foie</b></p>	<p>Dissoudre 34,2 g dans 1 litre d'eau distillée. Stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 minutes.</p>
  <p style="text-align: center;"><b>VRBL</b></p>	<p>Mettre en suspension 41.5 grammes de milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et faire dissoudre en chauffant tout en agitant fréquemment. Faire bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Peut également être reparti et stérilisé à 118°C pendant 15 minutes.</p>
  <p style="text-align: center;"><b>PCA</b></p>	<p>Mélanger 23,5 g dans 1 litre d'eau distillée. Chauffer jusqu'à dissolution complète. Stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.</p>

**Hektoen**

Mettre en suspension 76 gramme du milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger. Chauffer jusqu'à dissolution complète. **NE PAS SURCHAUFFER. NE PAS STÉRILISER EN AUTOCLAVE**

**Braid parker**

Suspendre 63 grammes du milieu dans 950 ml d'eau distillée, Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec agitation fréquente Faire bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Refroidir à 45-50 C et ajouter aseptiquement 50 ml d'émulsion de jaune d'œuf Tellurite (Cat. 5129) Homogénéiser délicatement et répartir dans des boîtes de Petri.

**Bouillon selenite**

Mettre 23,0 g en suspension dans 1 litre d'eau distillée et chauffer jusqu'à complète dissolution.

**NE PAS UTILISER AVEC AUTOCLAVE**

➤ **Antibiogramme**



Figure : les Antibiotiques.

## Résumé :

Le but de notre étude est de comparer la qualité physicochimique et microbiologique de deux poudres de spiruline commercialisées en Algérie. Deux Spirulines ont été choisies à savoir la spiruline de Tamanrasset produite en Algérie et la Spiruline Hawaïenne : produite à Hawaï. Ainsi l'activité antibactérienne la cinétique d'extraction de la phycocyanine ont été évaluées. Les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques ont montré que les paramètres étudiés présentent parfois des différences non significatives dans la teneur en eau et en matière grasse ; cependant la teneur en cendres présente une différence significative et une différence hautement significative a été observée dans la teneur en protéines et le pH. En effet et outre la méthode d'analyse choisie, plusieurs facteurs déterminent ces teneurs : souche ; composition du milieu de culture, luminosité, température et même d'autres facteurs tels le moment de la récolte, le mode de séchage et même le conditionnement. Les analyses microbiologiques montrent que les deux spirulines présentent une qualité microbiologique non satisfaisante à la suite d'une contamination *Clostridium perfringens*. La charge des deux spirulines en flore aérobie mésophile totale et les Anaérobies sulfite-réducteurs est faible. La recherche des Coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus* et du genre *Salmonella* a révélé des résultats négatifs. L'étude de l'activité antibactérienne a montré que *E. coli* était sensible à un traitement avec la solution aqueuse à 4% de spiruline. L'extraction de la phycocyanine semble être plus efficace avec des concentrations de 1% de spiruline et après une macération de 24 à 48h. À l'issue de cette étude, les deux spirulines sont jugées de qualité microbiologique dangereuse. La composition des deux spirulines présente une différence nette et la spiruline de Hawaï est significativement plus riche en protéines et en minéraux.

**Mots clés :** qualité physicochimique, qualité microbiologique, *Arthrospira platensis*, spiruline, phycocyanine.

## Abstract:

The object of our study is to compare the physicochemical and microbiological quality of two spirulina powders marketed in Algeria. Two Spirulina were chosen, namely the Spirulina of Tamanrasset produced in Algeria and the Hawaiian Spirulina: produced in Hawaii. Thus, the antibacterial activity and the extraction kinetics of the phycocyanin were evaluated. The results obtained for the physicochemical analyses showed that the studied parameters sometimes present non-significant differences in the water and fat content; however, the ash content presents a significant difference and a highly significant difference was observed in the protein content and the pH. In fact, in addition to the chosen method of analysis, several factors determine these contents: strain, composition of the culture medium, luminosity, temperature and even other factors such as the time of harvest, the drying method and even the packaging. Microbiological analyses show that both spirulina have an unsatisfactory microbiological quality due to *Clostridium perfringens* contamination. The load of the two spirulina in total aerobic mesophilic flora and sulfite-reducing anaerobes is low. The search for faecal coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* genus revealed negative results. The study of antibacterial activity showed that *E. coli* was sensitive to treatment with the 4% aqueous solution of spirulina. Phycocyanin extraction seems to be more efficient with 1% spirulina concentrations and after a 24 to 48h maceration. At the end of this study, both spirulina are considered of dangerous microbiological quality. The composition of the two spirulina shows a clear difference and the Hawaiian spirulina is significantly richer in proteins and minerals.

**Keywords:** physicochemical quality, microbiological quality, *Arthrospira platensis*, spirulina, phycocyanin.

## المخلص

الهدف من دراستنا هو مقارنة الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لنوعين من سبيرولينا التي يتم تسويقها في الجزائر. تم اختيار اثنتين من سبيرولينا ، وهما: سبيرولينا من تمنراست المنتجة في الجزائر و سبيرولينا هاواي: المنتجة في هاواي. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا واستخلاص الفيكوسيانين

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن العناصر المدروسة تظهر في بعض الأحيان اختلافات غير معنوية في محتوى الماء والدهون. ومع ذلك ، فإن محتوى المواد المعدنية يمثل فرقا معنويا وملاحظة اختلاف كبير في محتوى البروتين ودرجة الحموضة. في الواقع، بالإضافة إلى طريقة التحليل المختارة ، هناك عدة عوامل تحدد هذه المحتويات: السلالة ، وتكوين وسط الزرع ، الأضاءة ، درجة الحرارة ، وحتى عوامل أخرى مثل وقت الحصاد ، وطريقة التجفيف و التغليف. تظهر التحليلات الميكروبيولوجية أن *Clostridium perfringens* . كلتا سبيرولينا لديها حمولة منخفضة من *Clostridium perfringens* . كلتا السبيرولينا لهما جودة ميكروبيولوجية غير مرضية بسبب تلوثها ب *flore aérobie mésophile totale* و *Anaérobies sulfite-réducteurs*

أظهر البحث عن *Salmonella* و *Staphylococcus aureus* ، *Coliformes fécaux* نتائج سلبية.

4% حيث أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا أن الإشريكية القولونية كانت حساسة للعلاج بالمحلول المائي من سبيرولينا بنسبة

استخراج الفيكوسيانين مع تركيزات 1 ٪ من السبيرولينا يكون أكثر كفاءة بعد 24 إلى 48 ساعة من النقع.

في نهاية هذه الدراسة ، تعتبر كل من السبيرولينا ذات جودة ميكروبيولوجية خطيرة. يُظهر تكوين السبيرولينا اختلافاً واضحاً ، كما أن سبيرولينا هاواي أكثر ثراءً في البروتينات . والمعادن .

**الكلمات المفتاحية:** *Arthrospira platensis* ، الجودة الفيزيائية والكيميائية ، الجودة الميكروبيولوجية ، سبيرولينا ، فيكوسيانين