

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO -VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

**LES DIFFERENTES TECHNIQUES D'ENCAPSULATION DE LA
SPIRULINE**

Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du
Diplôme master académique en science de la nature et de la vie

Spécialité: nutrition et contrôle des aliments

Présenté par : Mlle : AHMED ALI FATIMA

Devant le jury compose de :

M ^r KADRI B.	Maître de conférences B	USDB	Président de jury
M ^{me} DOUMANDJI A.	Maître de conférences A	USDB	Promotrice
M ^r BOUKHARI N.	Doctorant	ENSA	Co-promoteur
M ^{me} FERNANE	Maître assistante A	USDB	Examinatrice
M ^{me} ABDELLAOUI	Maître assistante A	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/2013

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire de l'unité SAIDAL et au niveau de laboratoire microbiologie d'hygiène de Blida.

Au terme de ce travail, il m'est agréable d'adresser mes remerciements les plus sincères à: **Dieu**, tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté pour mener à terme mon travail.

A cette occasion, qu'il me soit permis d'exprimer particulièrement, mes sentiments de reconnaissance et de satisfactions à ma promotrice M^{me} DOUMANJI A., pour sa patience son dévouement sa disponibilité régulière et ainsi son attention constante durant la réalisation de ce travail. Elle a su m'initier à un travail de recherche scientifique et théorique.

Je désire aussi remercier mon Co-promoteur : M^r BOUKHARI N., pour son suivi, ses conseils, ses orientations et ses encouragements qu'il a su m'accorder.

A notre président de thèse M^r : KADRI B.

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury de cette thèse :

Mes vifs remerciements et mes hommages respectueux.

Je remercie tous les membres de mon jury de thèse de m'avoir fait l'honneur d'assister et examiner ce modeste travail : M^{me} FERNANE S. et M^{me} ABDELLAOUI Z.

J'exprime mes profonds respects et chaleureux remerciement à la directrice M^{me} ABADA qui m'a accueilli au sein de son laboratoire, et tout les techniciens et les ingénieurs de laboratoire particulièrement : M^r HASNI.

Je ne manquerai pas de remercier les membres du personnel de laboratoire d'hygiène de Blida pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée.

Un grand merci à M^r GHEZALI pour son aide au cours de réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier ici de tout, on cour tous ceux qui de près ou de loin ont voulu contribuer à m'aider avec compréhension et bienveillance à mener à bien ce mémoire.

La réussite de ce travail dépend aussi du soutien moral et de l'encouragement social très chaleureux dont ma famille en particulier ma mère, mes sœurs, mes frères.

Dédicaces

*A la mémoire de mon père qui a béni mon désir d'apprendre
et m'a toujours encouragé pour être devienne ce que je suis.*

A ma très chers maman.

A mes sœurs : Fatma, NACIRA, Samia, Keltoum.

A mes frères : Ali, Hassane.

A mes nièce : Katia, Sara, Nesrine, Melissa

A mon adorable neveux : Tarek

A tout ma famille (oncles, tantes, cousins et cousines).

A mes amis : Khadîdja, Hafidha, Fatima, Meriem, Habiba

AMINE.

*A l'ensemble des étudiants et étudiantes de la promotion
2012/2013 de nutrition et contrôle des aliments.*

A toutes les personnes que j'aime.

Fatima.

Resumé

L'objectif du présent travail est l'élaboration d'un complément alimentaire à base de poudre de spiruline. La spiruline, qualifiée comme étant l'aliment concentré de protéines, de vitamines, d'oligo-élément, minéraux et de pigments fonctionnels tel que la phycocyanine connue par son potentiel fonctionnel et thérapeutique.

Dans un premier temps, une caractérisation physico-chimique et microbiologique de la poudre de spiruline a été réalisée, l'analyse des caractéristiques de nos comprimés et gélules a été réalisée en appliquant les mêmes procédés que ceux utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Ainsi la détermination de certaines propriétés physico-chimiques de comprimés (dureté, friabilité, temps de désintégration, et la dissolution de la phycocyanine) a été étudiée dans trois milieux différents imitant certaines conditions physiologiques. (Eau distillée, phosphate de potassium 6.8, HCl 0.1N)

La spiruline étudiée présente une valeur nutritionnelle importante en effet, elle contient plus de 55 % en protéine, 18,45% en glucide et 4 % de lipide, un taux de phycocyanine d'ordre de 1,75 %, et 1,02 % de sa masse sèche totale est de chlorophylle, de même l'analyse microbiologique n'a donné aucune présence de germe ou d'autre forme de bactérie.

Les comprimés élaborés à base de spiruline pure, présente des caractéristiques physiques dans les normes, avec une dureté de 50 kN, et une perte de masse de 0,81 %. La dissolution de phycocyanine donne un taux de libération de 17 % pour les comprimés et 27% pour les gélules.

Mots clés : spiruline, comprimés, gélules, complément alimentaire, phycocyanine

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير مكمل غذائي من مسحوق سبيرولينا التي تعتبر ذات تركيز بروتيني غذائي عالي، ومكونات وظيفية مثل فيكوسيانين المعروف وظائفه العلاجية المحتملة (مضاد للجراثيم، المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات) زيادة الى المعادن والفيتامينات المختلفة
نكهة سبيرولينا ومظهرها يصعب تقبلها في بعض الأحيان من قبل بعض المستهلكين. ونتيجة لذلك، شعرنا أنه من على شكل كبسولات وأقراص الضروري جعل مسحوق سبيرولينا
لمسحوق سبيرولينا، بالنسبة أجري لتحاليل في البداية، قمنا بإجراء توصيف الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية خصائص الأقراص والكبسولات استخدمنا نفس الأساليب التي تستخدم في صناعة المستحضرات الصيدلانية. وتمت دراسة تحديد بعض الخصائص الفيزيائية للأقراص (صلابة، تفتيت، وقت التفكك والانحلال لفيكوسيانين) في ثلاث محاليل الإعلام يولوجية: مختلفة محاكاة للظروف الف
سبيرولينا المدروسة تحتوي على قيمة غذائية هامة لأنها تحتوي على أكثر من 55% بروتين، 18.45% في الكربوهيدرات و 4% دهون فيكوسيانينو ١٠٢ كلوروفيل %كماتحتوي على 1.75%
التحليل الميكروبيولوجي لم يذكر وجود بذور أو أي أشكال أخرى من البكتيريا

أعدت أقراص على أساس محض سبيرولينا لديها الخصائص الفيزيائية ضمن المعايير، مع صلابة من تقدر بـ 50 كيلو نيوتن، وفقدان الوزن بـ 0.81%

تحللفيكوسيانينا على معدل الإفراج عن 17% للحبوب و 27% للكبسولات
الكلمات الجوهرية: السبيرولينا، أقراص، وكبسولات، والمكملات الغذائية، فيكوسيانين

Abstract

The objective of this work is the development of a food supplement from Spirulina powder. Spirulina micro-algae qualify as a concentrated food of protein, vitamins, minerals and minerals, in addition of functional pigments such as phycocyanin known as its functional and therapeutic potential.

The flavor of spirulina and its appearance, some consumers have difficulty to accept it. As a result, we felt it necessary to make an encapsulation form of capsules and tablets. At first, a physico-chemical and microbiological characterization of spirulina powder was conducted, analyzing the characteristics of our tablets and capsules was conducted using the same methods as those used in the pharmaceutical industry. And the determination of some physicochemical properties of tablets (hardness, friability, disintegration time), the dissolution of phycocyanin was studied in three different physiological solutions.

The Spirulina studied presents an important nutritional value because it contains more than 55% protein, 18.45% in carbohydrate and 4% lipid, phycocyanin order rate of 1.75% and 1.02% of the total dry mass is a chlorophyll, the microbiological analysis gave no presence of seed or other forms of bacteria.

The tablets prepared based on pure spirulina has physical characteristics within standards, with a hardness of 50 kN, and a weight loss of 0.81%. The dissolution of phycocyanin provides a release rate of 17% for tablets and 27% and capsules.

Keywords : spirulina, tablets, capsules ,dietary supplement, phycocyanine

Liste des abréviations

Abs:	Absence
AFNOR :	Agence Française de Normalisation
AJR :	Apports Journaliers Recommandés
ANC :	Apports Nutritionnels Conseillés
ANSES :	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement de travail ;
Ca-SP :	Calcium spiruline
DGCCRF:	Déclaration à la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des Fraudes
EFSA :	Autorité européenne de sécurité des aliments
ESA :	Agence Spatiale Européenne
FAO :	Organisations des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
HACCP :	Analyse des Risques et Points de Contrôle Critiques
ISO :	International standards organisation
JOCE :	Journal Officielle de Commission Européen
MELISSA :	Micro-Ecological Life Support System Alternative
NA :	Normes Algériens
NF :	Norme Françaises
NPP :	Nombre le plus probable
OGA :	Gélose glucosée à l'oxytetracycline
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PA :	Principe actif
PEG :	Polyéthylène glycol
r.p.m :	Rond per minute
SFB :	bouillon selenite cystine
SFNS:	Société Française de Nutrition du Sport ;
TGEA :	Tryptone glucose extract agar ;
VBL :	Vert brillant Lactosé.
CCM :	Chromatographie en couche mince
pH:	Potentiel d'hydrogène

Liste des figures

Partie I : Etude bibliographique

<u>Figure 1: <i>Spirulina platensis</i> observée au microscope</u>	3
<u>Figure 2 : <i>Spirulina maxima</i></u>	4
<u>Figure 3 : <i>Spirulina platensis</i></u>	4
<u>Figure 4 : Bassin de Culture à l'échèle industriel</u>	5
<u>Figure 5 : Filtration de la spiruline dans le sud algérien</u>	7
<u>Figure 6 : Spiruline en granulé</u>	8
<u>Figure 7 : Spiruline en poudre</u>	8
<u>Figure 8 : Spiruline en comprimés</u>	9
<u>Figure 9 : Spiruline en gélule</u>	9
<u>Figure 10: Molécules de phycocyanobiline</u>	17
<u>Figure 11 : gélule de spiruline</u>	22
<u>Figure 12 : Géluleuse manuelle</u>	23
Figure 13: le marché français des compléments alimentaires en 2010	31
Partie II : Etude Expérimentale	
Figure 14 : Photographie de complexe SAIDAL anti biotique-Médea	42
Figure 15 : Aspect de la poudre de spiruline	42
Figure 16 : photographie de pH mètre	42
Figure 17 : Photographie d'un dessiccateur	43
Figure 18 : Appareille de titrage	44
Figure 19: Photographie d'un distillateur d'azote	46
Figure 20 : Photographie d'un four à moufle	47
Figure 21 : Photographie d'un dispositif de SOXHLET	47
Figure 22 : Photographie d'un rotavapeur	48
Figure 23 : Photographie d un spectrophotomètre	49
Figure 24 : Diagramme de fabrication des comprimés par compression directe	59
Figure 25: Photo de la comprimeuse manuelle alternative	60

Figure 26: Photo d'un Friabilimètre.....	61
Figure 27: Photo du Duromètre.	61
Figure 28: Photo du désintégrateur.	62
Figure 29 : Photo de l'appareillage de dissolution.	63
Figure 30 : Digramme de mise en Gélules.....	64
Figure 31 : Résultats obtenus après les analyses microbiologiques.....	66
Figure 32 : Concentration en glucose en fonction de la densité optique à 630 nm.....	68
Figure 33 : Séparation des pigments hydrosolubles de la spiruline par CCM.....	69
Figure 34 : Les comprimés de spiruline.....	70
Figure 35 : Taux de libération de phycocyanine en fonction de temps d'immersion pour différents milieux, cas des comprimés.....	71
Figure 36 : Libération de la phycocyanine dans les coordonnées log-log pour différents milieux, cas des comprimés.....	72
Figure37 : Les gélules de spiruline.	73
Figure 38 : Taux de libération de phycocyanine en fonction de temps d'immersion pour différents milieux, cas des gélules.....	74

Liste des tableaux

Partie I : Etude bibliographique

Tableau 1 : Composition approximative de la spiruline en acides amines.....	9
Tableau 2 : composition approximative de la spiruline en vitamines.....	10
Tableau 2 : composition approximative de la spiruline en minéraux.....	11
Tableau 4 : Principaux pigments de la spiruline.	12
Tableau 5 : Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants.....	17
Tableau 6 : Classification des gélules selon leurs tailles.....	21
Tableau 7 : Tolérance de la Pharmacopée Européenne pour l'uniformité de masse.	23
Tableau 8 : Différences entre un médicament et un complément alimentaire.....	31
Tableau 9 : Les doses journalières maximales.....	33
Tableau 10 : Valeur énergétique.....	35

Partie II : Etude Expérimentale

Tableau 11 : Résultats des analyses bactériologiques effectué sur la poudre spiruline	66
Tableau 12 : Indices physico-chimique de la poudre de spiruline	67
Tableau 13 : Concentration des pigments de la spiruline	69
Tableau 14 : Quelques propriétés physico-chimique des comprimés	70
Tableau 15 : Constantes de l'équation Kolsmeyer-Peppas appliquée sur les comprimés.....	72
Tableau 16 : valeur nutritionnel et énergétique des comprimés	73
Tableau 17 : Caractéristiques des gélules.....	73
Tableau 18 : Valeur nutritionnel et énergétique des gélules.	75
Tableau 19 : Résultats des analyses bactériologiques effectué sur les gélules et comprimés.	75

Liste des symboles

C	La concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4 %.
Dil	Facteur de dilution en volume
DO_{xxx}	La densité optique (DO) mesurée à la longueur d'onde xxx nm (m^{-1})
F	La friabilité ou perte en masse
H	Humidité(%);
k	Constante caractérisant en même temps la structure et la géométrie des comprimés ;
m	La masse de la prise d'essai(g);
m_A	Poids du ballon + extrait(g) ;
M_A	Taux d'acidité titrable dans la spiruline(%);
m_B	Poids du ballon vide(g) ;
M_C	Teneur en cendres(%);
m_{c0}	la masse du creuset (g)
m_{c1}	la masse du creuset+ la prise d'essai(g) ;
m_{c2}	la masse du creuset+ la prise d'essai sèche(g) ;
M_{car}	Concentration des caroténoïdes(%);
M_{Cha,b,c}	Concentrations des chlorophylles a, b et c(%);
M_G	La teneur en matière grasse(g) ;
M_N	La teneur en azote total dans la spiruline(%);
M_P	La teneur en protéine de la spiruline(%);
m_{v0}	La masse du verre de montre(g) ;
m_{v1}	La masse du verre de montre+ la prise d'essai (g);
m_{v2}	La masse du verre de montre+ la prise d'essai sèche(g)
M_{ph}	Concentration en phycocyanine(%);
M_{ph0}	La quantité totale de phycocyanine dans le véhicule(g) ;
M_{pht}	La quantité de phycocyanine libérée au temps t
M_s	Taux de matière sèche dans la spiruline (%);
n	paramètre « exposant de la diffusion » et prendra différentes valeurs selon le type de diffusion en présence et selon la géométrie du système
N_c	Nombre de colonies
N_g	Nombre de germes par ml de produit
P	Poids de la prise d'essai(g) ;
P₀	Poids initial des comprimés(g) ;
P₁	Poids final des comprimés(g) ;
Rf	facteur de rétention
T	Le titre exact de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée
t	Temps (min) ;
v	Volume de dilution (ml) ;
v₁	Le volume de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée dans le titrage de l'échantillon (ml) ;
V₀	Le volume de la prise d'essai à blanc (ml) ;
V_{as}	Volume d'acide sulfurique (0,1N) utilisé pour la neutralisation de l'ammoniac (ml).

Unité de mesure

°C	Degré Celsius
g	gramme
kN	Kilo Newton
kcal	Kilo calories
ml	Millilitre
mm	Milimetre
µm	Micromètre
%	pourcentage
UFC	Unite formant colonies

Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre I: Généralités sur la spiruline

I. Présentation de la spiruline	3
I.1. Définition	3
I.2. Morphologie et caractères généraux	3
I.3. Production	4
I.4. Conditionnement et conservation	6
I.5. La spiruline un aliment fonctionnel.....	7
I.6. Constituants et apports nutritionnelles de la spiruline	8
I.7. Les utilisations de la spiruline	13
I.8. Activités thérapeutiques de la spiruline et de ses constituants.....	16
I.9. Toxicité et surdosage de la spiruline.....	18
I.10. Réaction allergiques.....	18
I.11. Marché de la spiruline.....	18
I.12. La spiruline en Algérie.....	19

Chapitre II. Généralités sur l'encapsulation des aliments

II. Généralités sur l'encapsulation des aliments.....	20
II.1. Intérêts de l'encapsulation.....	20
II.2. Libération contrôlée d'un principe actif	20
II.3. Les gélules ou capsules dures.....	20
II.4. Les comprimés.....	24

Chapitre III: Généralités sur Les compléments alimentaires

III. Généralités sur Les compléments alimentaires.....	30
III.1. Définition	30
III.2. Utilisation des compléments alimentaires	30
III.3. Distinction avec les médicaments	30
III.4. Le marché des compléments alimentaires	31
III.5. Réglementation des compléments alimentaires	32

III.6.	Intérêt de la prise de compléments alimentaires	35
--------	---	----

Partie II :Etude experimmentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I.1.	Présentation du groupe SAIDAL.....	39
I.2.	Matériel et méthodes.....	40
I.3.	Méthodes d'analyses.....	42
I.3.1.	Caractérisation physico-chimique de la poudre de spiruline	42
I.3.2.	Extraction des pigments hydrosolubles	50
I.3.3.	Analyses microbiologiques.....	52
I.4.	Obtention et caractérisation des comprimés (spiruline).....	59
I.4.1	Formulatuion des comprimés	59
I.4.2.	Certaines caractéristiques physico-chimiques des comprimés	60
I.5.	Mise en gélule.....	64

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1.	Caractérisation microbiologique des matières premières.....	66
II.2.	Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de spiruline.....	66
II.3.	Pigments de la spiruline	68
II.4.	Caractéristiques physico-chimiques des comprimés.....	70
II.5.	Contrôle des gélules	73
II.6.	Stabilité des Gélules et des comprimés.....	75
II.7.	Control biologique de produit fini	75
	Conclusion	76
	Bibliographie.....	78

Annexes .

Introduction

Introduction

Depuis toujours l'alimentation est connue pour être un élément très important pour la santé. Ainsi au cinquième siècle avant J.C, Hippocrate affirmait : « Que ton alimentation soit ta principale médecine » (**Mathe et al., 2008**). Avicenne en 792 avait écrit dans « Poème de médecine » les propos suivants « Si tu tiens à maintenir en bon état le tempérament de quelqu'un, donne lui une alimentation appropriée ».

L'Algérie est aujourd'hui plus que jamais touchée par la malnutrition. Cette notion change d'aspect selon le contexte géographique et économique le mode de vie des familles et leurs traditions. Surpoids et obésité d'une part, diverses carences d'une autre part.

La spiruline grâce à ces propriétés nutritionnelles, la facilité de sa culture, sa haute productivité et son faible coût de production peut être considérée comme une ressource alimentaire non conventionnelle (pouvant contenir jusqu'à 70 % de protéines); elle est riche en sels minéraux, en oligo-éléments et en nombreuses vitamines (**Sall, 1999**), et elle est devenue l'aliment privilégié des Organisations Non Gouvernementales (ONG) et associations de lutte contre la malnutrition.

En plus de la chlorophylle, la spiruline contient la phycocyanine qui est un pigment connu possédant un pouvoir antioxydant intéressant (**Hirata et al., 2000**) et antidiabétique mis en évidence récemment (**Ou et al., 2013**). En effet, différentes études ont démontré le rôle de la spiruline dans la prévention de nombreuses pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et le vieillissement prématuré (**Girardin-Andréaniet al., 2005**). Comme conséquence, il y a plusieurs applications de la spiruline dans l'alimentation humaine.

Ce travail a pour objectif l'élaboration d'un complément alimentaire à base de poudre de spiruline sous forme de gélules et de comprimés. Le but étant de faciliter sa commercialisation à une large population comme les patients ayant des difficultés à avaler des aliments.

Le consommateur algérien moyen couvre ses besoins en protéines par des produits d'origine végétale (légumineuse et les céréales) et très peu de produits d'origine animale. Un régime alimentaire qui ne couvre pas les besoins en protéines, il est donc urgent d'introduire une cyanobactérie telle que la spiruline pour pallier à ce problème. L'encapsulation est un bon moyen pour maintenir spiruline en tous ces principes actifs (vitamines, minéraux, phycocyanine...).

Le présent manuscrit constitue deux parties :

La première partie étude bibliographique présente en trois chapitres :

- Le premier constitue la présentation de la spiruline, ses principaux composants, sa composition nutritionnelle qualitative et quantitative, les valeurs nutritionnelles, système de culture et mode de production, les domaines d'utilisations, les activités thérapeutiques de ces composés principales seront également exposées.
- Le deuxième comprend les compléments alimentaires, définitions, compositions et réglementations qui gèrent la production et la commercialisation.

- Le troisième abordé les comprimés et les gélules, leur intérêts et avantage ainsi que leurs contrôles étant que produit fini.
- La deuxième partie : étude expérimentale consiste à expliquer les méthodes et analyses présentes et a pour objectif d'exposer les protocoles expérimentaux ainsi que le matériel et équipement utilisé pour la caractérisation physico-chimique de la poudre de spiruline, extraction et quantifications des pigments hydrosolubles, caractérisation microbiologique, caractéristiques physico-chimiques des comprimés et des gélules, aussi dans ce chapitre nous allons étudier la phycocyanine comme principe actif.
- Le deuxième chapitre de la partie expérimentale est consacré à l'exposition des résultats obtenus, analyses et discussion, l'étude de la dissolution des comprimés et des gélules a été menée en considérant que la phycocyanine comme principe actif, puisqu'il est le pigment en plus grande concentration dans la spiruline ainsi a cause de son effets thérapeutique apporté par plusieurs auteurs (**Liu et al., 2000 ; Romay et al., 2003**).

PARTIE I
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de la spiruline

La spiruline est un complément alimentaire du futur, énergisante, riche en nutriments, des propriétés anti-âge et anti-cancer, permettant même de contrôler le poids ou de construire du muscle. La spiruline grâce à ses qualités nutritionnelles exceptionnelles (Elle offre jusqu'à 70 % de protéines, de sels minéraux, des oligo-éléments et vitamines), la spiruline grâce à sa facilité de culture, fait partie intégrante des habitudes alimentaires traditionnelles de certaines populations depuis des siècles telles que les Aztèques (**Jourdan, 2012**) du Mexique et les Kanembous du Tchad (**Déborah, 2008**).

I.1. Définition

La Spiruline est une cyanobactérie, anciennement désignée par le terme « algue bleue » puis cyanophycée. Elle est classée parmi les bactéries gram négatives et peut être unicellulaire ou pluricellulaire. C'est une bactérie autotrophes, c'est-à-dire capables d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse avec production d'oxygène. Elle est également capable de fixer l'azote atmosphérique.

I.2. Morphologie et caractères généraux

La spiruline tire son nom de ces filaments non ramifiés enroulés en spirales, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin (Figure 1). Elle a une longueur moyenne de 0,3 mm (**Jourdan, 2012**). On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites. Toutefois, elle possède une grande adaptabilité morphologique et dimensionnelle liée aux milieux de culture.

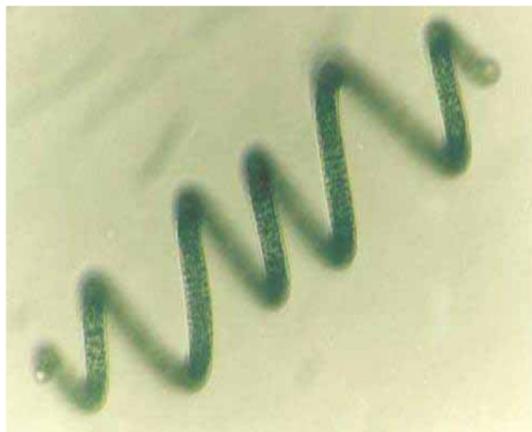


Figure 1: *Spirulina platensis* observée au microscope (Antenna technologies, 2007).

La taille des cellules de cyanobactéries se situe généralement entre 1 et 10 microns (**Lindblad et al., 1998**). Leur paroi est de type Gram-négatif classique. Ce sont de vrais procaryotes (organismes dépourvus de membrane nucléaire), malgré leur système photosynthétique proche de celui des eucaryotes (**Gershwin, 2009**).

Il existe deux espèces de spirulines : *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis*. Toutes deux ont des origines différentes et ont été découvertes dans deux endroits très particuliers du globe.

L'espèce *Spirulina platensis* est la plus connue et la plus utilisée lors des travaux de recherche ou lors de l'ensemencement de nouvelles cultures. Elle se compose de trichomes un peu rétrécis au niveau des articulations (Figure 3). Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50 μm , diminuant légèrement vers les extrémités.

Par contre l'espèce *Spirulina maxima* se caractérise par des trichomes légèrement effilés aux extrémités et ne rétrécissent pas au niveau de l'extrémité. Ils forment une spire régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 μm de diamètre (Figure 3).



Figure 2 : *Spirulina maxima*.

Figure 3 : *Spirulina platensis*.

(Antenna technologies, 2007).

(Antenna technologies, 2007).

I.3. Production

La production de Spiruline se fait à plusieurs échelles : artisanale, semi-industrielle et industrielle. Les éléments de différenciation de ces modes de production sont la surface totale des bassins de culture et leurs surfaces unitaires, les moyens et matériaux utilisés, les degrés de technologie, les objectifs. Le processus de fabrication de la Spiruline passe cependant par les mêmes étapes obligatoires (Jourdan, 2012).

I.3.1. Bassins de culture

La spiruline se cultive dans des bassins de différentes tailles confectionnés en plastique, béton, parpaings, briques ou en argile (Jourdan, 2012). Comme mesure de précaution, ces bassins doivent être couverts par une serre, une agitation est nécessaire pour homogénéiser, favoriser l'élimination de l'oxygène et assurer une bonne répartition de l'éclairage parmi toutes la spiruline (Jourdan, 2012).



Figure 4 : Bassin de Culture à l'échelle industriel (Antenna technologies, 2007).

I.3.2. Milieu de culture

Les spirulines vivent dans une eau à la fois sale et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable ou au moins filtrée. L'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium. Tandis que la salinité complémentaire est apportée par les différents engrais (l'azote, phosphate, potassium) et du sel (chlorure de sodium) (**Jourdan, 2012**).

I.3.3. Ensemencement

Pour ensemercer il suffit de transvaser dans du milieu de culture neuf un certain volume de culture provenant d'un autre bassin en production jusqu'à ce que la couleur devienne verte. Ensemencer de préférence le soir. Pour réussir le démarrage d'une culture on a toujours intérêt à démarres aussi concentré que possible en spiruline (**Jourdan, 2012**).

I.3.4. La filtration

Afin de récolter une spiruline aussi pure que possible, il est conseillé de la faire passer à travers une toile de 150 μ m avant celle de 30 ou 60 μ m de manière à recueillir les débris sur la première et la spiruline sur la deuxième toile et à laisser passer le filtrat, la pâte verte de spiruline qui s'est accumulée sur le filtre peut être récupérée, en cas de production à grande échelle, un tapis vibrant peut être mis après avoir éliminé les débris (**Fox, 1999**).



Figure 5 : Filtration de la spiruline dans le sud algérien
(**Antenna technologies, 2007**).

I.3.5. Lavage et essorage

Lorsque la culture est sale, malodorante ou trop salée, Jourdan conseille de laver la biomasse avec de l'eau douce potable avant le pressage et le séchage (**Jourdan, 2012**). De son côté, Falquet (**Falquet et al., 2006**) pense que le lavage de la spiruline après la récolte et avant le pressage est à éviter.

L'essorage est réalisé par pression. Dès l'apparition du liquide vert passant à travers la toile de pressage, il est conseillé de stopper cette opération. Dans tous les cas le temps de pressage ne doit pas excéder 30 à 35 minutes, afin de réduire le risque de fermentation. La biomasse ainsi pressée contient environ 20% de matière sèche (**Jourdan, 2012**).

I.3.6. Le Séchage

Le séchage est le seul moyen sûr de conserver et de distribuer la spiruline sans chaîne de froid (**Jourdan, 2012**). A la différence des productions industrielles, lors d'une production artisanale, ce sont les filaments entiers de spiruline qui sont soumis au séchage. Le temps de séchage est plus long, mais l'intérieur des cellules n'est pas soumis au contact direct des gaz chauds. La spiruline "égouttée" contient environ 90 % d'eau. La spiruline essorée en contient encore près de 80 %. Or, la spiruline séchée ne doit pas contenir plus de 7 à 8 % d'eau.

I.4. Conditionnement et conservation

La spiruline sèche peut se conserver longtemps sans perdre trop de ses qualités à condition d'être stockée en sachets bien remplis et étanches, à l'abri de la lumière, de l'air, et des fortes chaleurs (Jourdan, 2012).

La spiruline est plus agréable à consommer et fournit le plus de vitamines dès sa récolte, lorsqu'elle est non séchée. La durée de conservation d'une biomasse non lavée et pressée jusqu'à une teneur en matière sèche comprise entre 20 et 30 %, ne dépasse pas quelques heures à température ambiante. Réfrigérée à 4°C, cette biomasse peut-être conservée deux à trois jours. Cette durée peut atteindre une bonne semaine si on ajoute 5 à 10 % de sel. Le mélange de biomasse de spiruline avec une huile alimentaire ainsi que certains condiments (herbes aromatiques) permettent également de prolonger le temps de conservation.

La spiruline peut être conditionnée sous forme de granulés (Figure 6), poudre (Figure 7), de comprimés (Figure 8) et de gélules (Figure 9).



Figure 6 : Spiruline en granulé.

(Antenna technologies, 2007).



Figure 7 : Spiruline en poudre.

(Antenna technologies, 2007).



Figure 8 : Spiruline en comprimés.
(Antenna technologies, 2007).



Figure 9 : Spiruline en gélule.
(Antenna technologies, 2007).

Sur le plan de la conservation des qualités nutritionnelles de la spiruline sèche, quatre paramètres sont à prendre en compte :

- Le type de séchage (garde les filaments intacts ou brise les filaments) ;
- Le taux d'humidité résiduel (blocage ou activation du développement microbien) ;
- La protection contre la lumière (destruction des vitamines et de la chlorophylle) ;
- La protection contre l'oxygène (évite l'oxydation) ;

L'action combinée de la lumière et de l'oxygène est des plus dommageables dans la conservation de la spiruline, par conséquent, seul un conditionnement opaque et sous vide (ou sous gaz inerte) peut garantir la conservation longue durée de la spiruline. Les sachets aluminisés multicouches thermoscellables sont donc fortement recommandés.

I.5. La spiruline un aliment fonctionnel

Les aliments dits fonctionnels doivent apporter des bénéfices physiologiques pour la santé autre que des apports nutritionnels ou énergétiques. Chaque aliment est défini selon quatre valeurs : une valeur énergétique, une valeur nutritionnelle, une valeur sensorielle et une valeur fonctionnelle (**Méjean, 2006**).

I.5.1. Valeur nutritionnelle

La valeur nutritionnelle est une condition nécessaire pour un aliment. Tout aliment a un rôle nutritif à remplir. Il doit pour cela apporter les substances indispensables dont l'organisme ne peut pas synthétiser tel que les acides aminés et acides gras indispensables, les oligoéléments, les vitamines et les minéraux. La composition nutritionnelle de la spiruline répond donc parfaitement à ce critère.

Autre avantage, la spiruline est beaucoup plus facile à digérer que d'autres compléments alimentaires comme les levures ou les chlorelles. Ses cellules ne sont pas protégées par d'épaisses parois cellulodiques, ce qui lui vaut un "taux de digestibilité" de l'ordre de 83 à 90% (**Charpy et al., 2008**).

I.5.2. Valeur énergétique

Un aliment se doit d'apporter de l'énergie à l'organisme sous forme de calories. Cette énergie est apportée principalement par les lipides, les protéines et les glucides qui fournissent respectivement 9 kcal, 4kCal et 4kCal. La composition nutritionnelle de la spiruline, riche en protéines, répond aussi parfaitement à ce critère.

I.5.3. Valeur sensorielle

Chaque aliment doit convenir à nos 5 sens :

- La vue par son aspect esthétique ;
- Le toucher par sa texture ;
- L'ouïe, le croustillant du pain, le croquant de la pomme pendant la mastication sont des éléments importants qui augmentent l'envie de manger ;

- L'odorat, c'est avec l'odeur certainement le sens le plus important, une bonne odeur ouvre l'appétit et excite les papilles gustatives ;
- Le goût, sans nul doute le sens le plus important pour apprécier ou non un aliment ;

Sur ce point, la spiruline ne répond pas forcément à ces critères. En effet, la vue de l'algue n'a rien d'appétissant. La texture de la spiruline séchée ressemble à celles des herbes. Par contre la texture de la spiruline mouillée, ressemblant à une bouillie verte et n'a rien d'attirant non plus. De même le goût et l'odeur de l'algue séchée sont fades et ne risquent pas d'attirer le consommateur. La spiruline n'est donc pas un aliment qui excitera les sens du consommateur.

I.5.4. Valeur fonctionnelle

Tout aliment est susceptible d'avoir une valeur fonctionnelle lorsqu'il a la propriété d'interférer sur les fonctions vitales de l'organisme et de moduler l'état de santé et au bien être d'un individu (**Méjean, 2006**). La fonctionnalité d'un aliment est apportée par une ou plusieurs molécules identifiables et présentant des activités spécifiques mesurables. La spiruline répond parfaitement à ce critère avec la présence innée de molécules actives telles que la phycocyanine et le calcium-spirulan. Ces molécules ayant démontrées tout leur potentiel fonctionnel sur des fonctions cible de l'organisme.

En Conclusion, la spiruline peut être considérée comme un aliment fonctionnel malgré sa faible valeur sensorielle, valeur qui pourra être compensée par un mélange avec un autre aliment appétissant ou par l'encapsulation en gélules ou en comprimés.

I.6. Constituants et apports nutritionnelles de la spiruline

Il est bien établi que les variations de conditions de culture provoquent facilement de forts changements dans la composition biochimique des spirulines. Cependant en moyenne, la spiruline contient en poids sec jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments).

I.6.1. Les protéines

I.6.1.1. Composition et valeur biologique

La spiruline a une teneur en protéines variant entre 50 et 70% (**Déborah, 2008**). Une valeur tout à fait exceptionnelle. Les meilleures sources de protéines végétales n'arrivent qu'à la moitié de ces teneurs. La farine de soja par exemple, contient 35% de protéines. Cette teneur dépend notamment de la période de la journée à laquelle elle est récoltée, la souche, le milieu de culture. La teneur en protéines sera plus importante si la récolte a été effectuée le matin (**Jourdan, 2012**).

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes car elles contiennent l'ensemble des acides aminés essentiels (Tableau 1) (47% du poids total des protéines).

I.6.1.2. Acides Amines

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes, car tous les acides aminés essentiels y figurent, ils représentent 47% du poids total des protéines (Falquet et al., 2006).

Tableau 1 : Composition approximative de la spiruline en acides amines (Jourdan, 2012).

Acides Amines	g/kg	Acides Amines	g/kg
Alanine	47	Lysine	29
Arginine	43	Méthionine	14
Acide aspartique	61	Phénylalanine	28
Cystine	6	Proline	27
Acide glutamique	91	Sérine	32
Glycine	32	Thréonine	32
Histidine	10	Tryptophane	9
Isoleucine	35	Tyrosine	30
Leucine	54	Valine	40

I.6.2. Glucides

Les glucides sont encore appelés hydrates de carbone ou sucres représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit sous forme directement assimilable (glucose), soit sous forme de réserve (amidon, glycogène) (Weil, 2006). Les glucides constituent 15 à 25 % de la matière sèche des spirulines (Falquet et al., 2006). D'autres polysaccharides comme le calcium-spirulan (Ca-SP) sont composés de rhamnose, ribose, mannose, fructose, galactose, xylose, glucose, acide glucuronique, acide galacturonique, sulfate et calcium (Hayashi et Hayashi, 1996). Cependant les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités. Ces polysaccharides présentent d'intéressantes propriétés anticoagulantes, immunostimulantes et antivirales (Lee et al., 2001).

I.6.3. Les vitamines

Les vitamines sont des substances vitales sans valeur énergétique mais. A l'exception de deux d'entre elles (vitamines K et D), l'homme n'est pas capable de les fabriquer et leur apport par l'alimentation est primordial pour le fonctionnement harmonieux de l'organisme. Bien que la spiruline ne couvre pas la totalité des besoins, Elle est quatre fois plus riche que le foie cru. Elle dispose d'une balance vitaminique (Tableau 2) optimale pour la plupart des complexes en vitamine B (Déborah, 2008). Il faut toutefois souligner la teneur exceptionnelle en vitamine B12 (Une dose de 4g / jour de spiruline séchée suffit amplement à couvrir la totalité

des besoins en vitamine B12. Compte tenu des rôles essentiels joués par les vitamines hydrosolubles, un apport quotidien en spiruline serait bénéfique pour apporter une partie des besoins vitaminiques non couverts par une alimentation peu variée, et ainsi éviter la survenue de nombreuses maladies liées aux carences (Déborah, 2008).

Tableau 2 : Composition approximative de la spiruline en vitamines (Déborah, 2008).

Vitamines	composition (mg/Kg)
Béta-carotène	1400
E (Tocophérol)	100
B1 (thiamine)	35
B2 (Riboflavine)	35
B2 (Riboflavine)	40
B3 ou PP (Niacine)	140
B5 (Acide pantothénique)	1
Vitamine B6 (pyridoxine)	10
B8 ou H (Biotine)	0,05
B9 (acide folique)	0,01
B12 (Cobalamine)	3,2
C	Traces

I.6.4. Lipides

En plus un rôle énergétique évident, avec un rendement calorifique de 9 kcal/g, les lipides présentent également un rôle structural essentiel en contribuant au maintien de l'architecture cellulaire. Cependant le rôle majeur des lipides présents dans la spiruline, est fonctionnel (Hudson et Karis, 1974). En effet, la composition lipidique de la spiruline se caractérise d'une part par un bon équilibre acides gras saturés/acides gras insaturés et d'autre part, la présence d'acides gras polyinsaturés dits essentiels (AGE). Selon les publications la valeur du poids sec en lipides totaux varient de 5,6 à 11 % en poids (Xue *et al.*, 2002 ; Girardin-Andréani 2005), et même 14,3 % au maximum (Babadzhanov *et al.*, 2004).

Cette fraction lipidique se caractérise par un bon équilibre acides gras saturés/acides gras polyinsaturés (Charpy *et al.*, 2004). Les lipides peuvent être séparés en une fraction saponifiable (83 %) et une fraction insaponifiable (17 %) contenant essentiellement une paraffine, des pigments, des alcools terpéniques et des stérols (Ross, 1990).

I.6.5. Sels minéraux et oligo-éléments

Les minéraux spécialement intéressants de la spiruline (Tableau 3) sont le fer, le calcium, le phosphore et le magnésium. La Spiruline constitue une source importante de fer (20 fois plus élevée que le germe de blé) (Belay 2002 ; Shizhonget *al.*, 2004).

Tableau 3 : composition approximative de la spiruline en minéraux (Jourdan, 2012).

Minéraux	Composition (mg/Kg)
Chrome	3
Calcium	10000
Cuivre	12
Fer	1500
Magnésium	3000
Manganèse	30
Phosphore	8000
Potassium	14000
Sodium	4000
Zinc	30

I.6.5.1. Calcium

La spiruline constitue une excellente source de calcium assimilable pouvant notamment être utilisée dans les cas d'intolérance au lactose ou de personnes consommant peu de produits laitiers (Déborah, 2008). Sa teneur est très variable, un ouvrage récent donne une teneur en calcium de 7 g/kg (Belay, 1997) et il est possible d'atteindre 14g/kg.

I.6.5.2. Magnésium

Le magnésium est un élément ubiquitaire qui intervient comme cofacteur presque toutes les enzymes des voies énergétiques, des réactions de phosphorylation-déphosphorylation, il favorise l'absorption du calcium par l'os, module la réactivité au stress, augmente l'activité du système immunitaire et a une action bénéfique sur de nombreux problèmes cardiaques (Hypotension, arythmie, infarctus du myocarde...) (Déborah, 2008). La spiruline représente une source naturelle bio disponible pour l'homme très intéressante en magnésium, entre autre par sa teneur en chlorophylle (Planes *et al.*, 2002).

I.6.5.3. Phosphore

La spiruline en apporte naturellement une quantité non négligeable. De plus, le calcium, le phosphore et le magnésium sont présents dans la spiruline en quantités comparables à celles trouvées dans le lait. Les quantités relatives de ces éléments sont équilibrées ce qui exclut le risque de décalcification par excès de phosphore et en font une source intéressante (Déborah, 2008).

I.6.5.4.Fer

Le fer est un minéral très répandu dans le corps. Ses rôles sont multiples, de la stimulation du système immunitaire à l'oxygénation du corps. Il a la particularité d'être assez rarement bio disponible dans les aliments d'origine végétale en contenant le plus (céréales complètes). Cause due bien souvent aux tanins et aux phytates qui empêchent sa métabolisation. Naturellement, la spiruline contient du fer mais l'ajout de sels de fer dans son milieu de culture augmente sa teneur qui peut alors doubler (**Déborah, 2008**).

I.6.5.5.Zinc

Naturellement, la spiruline en contient très peu mais un enrichissement à la culture peut en faire une source intéressante. La biodisponibilité du zinc de la spiruline n'a pas encore testée mais on peut soupçonner, au regard de la bonne biodisponibilité du fer et du magnésium, qu'il en sera de même pour le zinc (**Déborah, 2008**).

I.6.5.6.Sélénium

Le sélénium est l'oligo-élément antioxydant de référence qui semble agir en synergie avec la vitamine E dans la destruction des radicaux libres. En plus de ce rôle, il a une action importante sur l'immunité, la prévention des maladies cardio-vasculaires, la réduction des rhumatismes et la préservation de la vision. Les doses de sélénium trouvées naturellement dans la spiruline sont bien en dessous des doses recommandées et d'une très bonne biodisponibilité.

I.6.6. Les pigments

Les principaux pigments (Tableau 4) sont la phycocyanine, la chlorophylle et Caroténoïdes (**Déborah, 2008**).

Tableau 4 : Principaux pigments de la spiruline (**Jourdan, 2012**).

Pigments	Composition (g/kg)
Phycocyanine (bleu)	150
Chlorophylle (vert)	11
Caroténoïdes (orange)	3,7
Béta-carotène	1,4

I.6.6.1.La phycocyanine

Le terme 'phycocyanine' vient du grec « phyco » signifiant algue et « cyanine » venant de la couleur cyan, qui est dérivée du grec « kyanos » et signifie bleu-vert (**Wihitton et al., 2000**). La phycocyanine est une phycobiliprotéine. Seul colorant bleu alimentaire naturel, elle

est le pigment le plus abondant de la spiruline et représente plus de 15 % du poids frais et plus de 20 % du poids sec de l'algue (**Romay et al.,1998 ; Sall et al.,1999**), est constituée d'une structure protéique reliée à un chromophore. C'est un pigment assez rare dans la nature qui absorbe la lumière dans une longueur de 61 à 650 nanomètres (**Déborah, 2008**). Sa structure particulière lui confère des propriétés antioxydants, anti radicalaires et détoxifiantes. La phyco cyanine stimulerait également la production des globules rouges et des globules blancs (**Déborah, 2008**). Des études in vivo montrent que la consommation de spiruline a un impact positif sur la prévention et la réduction de pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré, les maladies infectieuses et les baisses du système (**Manoj et al., 1992 ; Girardin-Andréani, 2005**).

I.6.6.2.La chlorophylle

La chlorophylle est présente en proportion de 9-15 g/kg (**Campanella et al., 1999**), est un pigment essentiel de la photosynthèse puisqu'elle transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique. Constituée d'un atome de magnésium en son centre, la chlorophylle est parfois comparée à l'hémoglobine qui possède quant à elle un atome de fer. La spiruline en contient environ 1%, ce qui stimulerait les fonctions de presque tous les organes.

I.6.6.3.Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments non azotés dont la coloration varie du jaune au rouge. La plupart des caroténoïdes sont des provitamines A indispensables à l'homme et aux animaux (**Déborah, 2008**).

Des études menées pendant plusieurs années aux États-Unis et au Japon ont montré que la spiruline permet d'apporter une quantité importante d'antioxydants nécessaires à notre organisme: (La spiruline en contient entre 30 fois plus que les carottes). La beta carotène représente 80% des caroténoïdes présents.

Les caroténoïdes ont une action anti radicalaire. Ils participent également à la croissance et au développement de l'individu, ainsi qu'au maintien de la vision nocturne, Ils ont aussi des activités anticancéreuses et anti-inflammatoires largement rapportés dans les publications scientifiques (**Falquet et al., 2006**).

I.7. Les utilisations de la spiruline

La très grande richesse de la composition chimique de la Spiruline lui confère un large potentiel d'utilisations. Recommandée comme complément alimentaire pour lutter contre la malnutrition et les carences en acides gras essentiels, vitamines, fer et l'iode (**Liang, 1999**).

I.7.1. Utilisation de la spiruline à usage humain

La spiruline peut être consommée mélangée avec de la farine (**Xue et al., 2002**), de miel (**Jaouen et al., 1999**) et des boissons (**Zeng et Liang, 1995**), et rentre dans la fabrication de plusieurs produits alimentaires. Hormis dans le domaine de combattre la malnutrition, elle est utilisée dans des domaines variés Plusieurs substances d'intérêt biotechnologique issues de la spiruline sont disponibles sur le marché international. Ainsi les colorants alimentaires

naturels riches en phycocyanine (**Jaouen et al., 1999**), les acides gras polyinsaturés, le biodiesel (**Chisti, 2007**) et autres ont suscitées une attention particulière.

I.7.1.1. Aliment riche et équilibrée

La spiruline obtenue dans la production artisanale est un produit alimentaire naturel et équilibré consommée pour ses multiples apports en nutriments. Elle est plus riche en vitamines, minéraux et oligo-éléments que les produits industriels ayant subi un traitement thermique de conservation détruisant les micronutriments sensibles. De plus, la spiruline a une meilleure biodisponibilité que les substrats synthétisés artificiellement en laboratoire. Elle représente une source non négligeable d'énergie grâce aux lipides, glucides et protéines qu'elle contient (**Langlade et al., 2010**).

I.7.1.2. Utilisation dans un régime amaigrissant

La spiruline, grâce à son apport naturel et équilibré en vitamines, minéraux et oligo-éléments, peut donc être considérée comme une véritable alliée pour les personnes qui veulent entamer un régime amaigrissant. Son effet détoxifiant (lié notamment à la présence de chlorophylle) aide à éliminer les toxines de l'organisme. Après quelques jours d'utilisation, l'effet énergisant de la spiruline fait que la personne, non seulement ne se sent pas fatiguée et nerveuse (puisqu'elle n'est pas carencée), mais plus dynamique qu'avant le début de son régime amaigrissant (**Langlade et al., 2010**).

I.7.1.3. Amélioration de la capacité des sportifs

La qualité de l'alimentation est une composante importante dans l'équilibre des sportifs (**SFNS, 2007**) ;

- Les besoins élevés des sujets sont comblés par l'apport en énergie calorique (principalement les glucides et les lipides), et l'apport en vitamines et oligo-éléments ;
- La consommation de spiruline peut optimiser la préparation et les facultés de récupération à l'effort ;
- Les besoins accrus en protéines des sportifs s'expliquent par le fait que les protéines sont à la base de la constitution des muscles.
- La spiruline consommée régulièrement est intéressante pour les sportifs car elle est très riche en protéines de haute digestibilité et permet aux muscles de pouvoir récupérer plus facilement après de longs efforts. De plus, la masse musculaire se développe plus vite et présente une bonne qualité.
- Neutralisation des radicaux libres ; les besoins en agents antioxydants sont très importants chez les sportifs. En effet, de par la grande consommation d'oxygène qu'il engendre, le sport crée une surproduction de radicaux libres ;
- Le déficit en fer, avec ou sans anémie concomitante, est très fréquent chez les sportifs. Or, le fer joue un rôle clé dans le transport de l'oxygène, par le biais de l'hémoglobine et de la myoglobine ;
- Amélioration de la contraction et de la relaxation des muscles, La spiruline contient aussi du magnésium. Cet élément est nécessaire à la contraction et à la relaxation musculaire ;

- Amélioration de la concentration musculaire, Le calcium est aussi un minéral important puisque l'augmentation de sa concentration intracellulaire permet la contraction des muscles squelettiques.
- La spiruline renferme également une quantité appréciable de calcium bio disponible et mérite donc d'être utilisée comme complément à l'alimentation des sportifs.

I.7.1.4.Cosmétique

En cosmétologie, elle est utilisée dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire (**Spolaore et al., 2006**). Elle est aussi utilisée en synergie avec d'autres algues, comme agent cicatrisant et antiseptique. Depuis de nombreuses années, la phycocyanine rentre dans la composition de rouges à lèvres et de crayons pour souligner les yeux, disponibles sur le marché asiatique (**Langlade et al., 2010**).

I.7.1.5.L'agroalimentaire

Dans l'agroalimentaire, la spiruline est utilisée comme colorant naturel grâce aux extractions de la phycocyanine, la chlorophylle et les caroténoïdes. Ces colorants sont utilisés pour rendre attractifs les produits alimentaires. Ils sont utilisés dans la fabrication des chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées (**Spolaore et al., 2006**). Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline (**Langlade et al., 2010**).

La spiruline est utilisée aussi pour accentuer la couleur des œufs et de la chair de poulet et les rendre plus attrayants au consommateur (**Toyomizu et al., 2001**).

I.7.1.6.L'aérospatiale

Dans le cadre du programme MELISSA (Micro-Ecological Life Support System Alternative), l'agence spatiale européenne(ESA) s'est intéressée à la Spiruline qu'elle intégrerait dans un écosystème artificiel fermé dans le compartiment photoautotrophe, d'une part pour équilibrer la ration alimentaire, d'autre part pour régénérer l'atmosphère par photosynthèse en vue des voyages à longue distance (Terre - Mars par exemple) (**MELISSA, 2002**).

I.7.1.7.Pour la santé

Diverses utilisations sont proposées par les auteurs, avec des arguments basés sur la composition de cet organisme et les études sur les activités de ses composants. Ces études sont pour la plupart réalisées sur des animaux ou des tissus de culture. Nous présentons ci-dessous (I.8 5) certaines utilisations, mais nous ne pouvons pas juger de leur efficacité. D'une part la Spiruline n'est pas un médicament, donc pas soumise à l'obligation de test d'efficacité (**Langlade et al., 2010**).

I.7.2. Spiruline à usage animal

La Spiruline est utilisée comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture, en agroalimentaire, et elle est vendue pour la nutrition des animaux (chats, chiens, chevaux, vaches et taureaux) (**Langlade et al., 2010**) pour des effets très spécifiques.

I.7.2.1. Favoriser la croissance et la fertilité

Elle est utilisée en aquariophilie (**Kim et al., 2006 ; Habib et al., 2008**) et en aquaculture pour favoriser la croissance des poissons et des crevettes, renforcer les défenses immunitaires des poissons d'élevage (**Watanuki et al., 2006**).

I.7.2.2. Renforcer défenses immunitaires

En aquaculture, 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 bassin. Watanuki et al (**Watanuki et al., 2006**) ont mis en évidence l'effet immunostimulant de *Spirulina platensis* chez la carpe *Cyprinus carpio*.

I.7.2.3. Augmenter la pigmentation

En aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement tels le *Xiphophorus helleri* ou les carpes Koi ;

En aquaculture pour améliorer la pigmentation des crevettes et des poissons (**Regunathan et Wesley, 2006**).

I.7.2.4. Augmenter les performances des animaux

Elle est vendue pour la nutrition des taureaux reproducteurs, des chevaux de course (**Langlade et al., 2010**).

I.8. Activités thérapeutiques de la spiruline et de ses constituants

Outre des propriétés nutritionnelles avérées, la spiruline connaît aujourd'hui un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique internationale du fait de sa possible utilisation comme source de produits à vertus thérapeutiques. En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique.

I.8.1. Constituants fonctionnels principaux

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

I.8.1.1. La phycocyanine

Les phycobiliprotéines, dont fait partie la phycocyanine, sont des chromoprotéines constituées d'une partie protéique et d'un pigment (**Lee, 2001**).

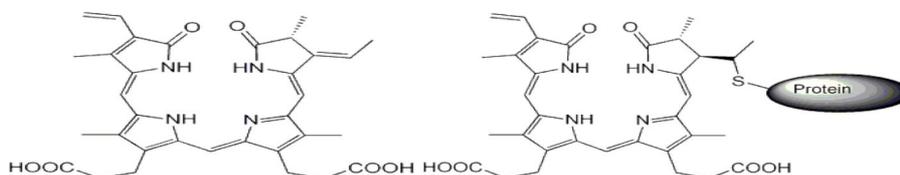


Figure 10 : Molécules de phycocyanobiline (à gauche) et de phycocyanine (à droite).

Les phycobiliprotéines contiennent toutes un groupement protéique et plusieurs chromophores de différents types liés à l'apoprotéine par des résidus cystéine via des ponts thioethers (**Kapoor et Mehta, 1992**).

I.8.1.2. Le calcium-spirulan

Le calcium-spirulan (Ca-SP) est un polysaccharide sulfate chélate à du calcium. Isolé de *Spirulina platensis*, ce polysaccharide se compose à 60 % de rhamnose, 46 % de fructose et dans de moindres proportions de ribose, mannose, galactose, xylose, glucose, acide glucuronique, acide galacturonique. Le contenu en composés sulfatés est estimé entre 3,24 % (**Mishima et al., 2009**) et 5,7 % (**Lee et al., 2001**) suggérant la présence d'ester de sulfate.

I.8.2. Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants

Tableau 5 : Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants.

Activité	Référence
Activités antioxydantes de phycocyanine	(Hirata et al., 2000 ; Piñero et al., 2001, Romay et al., 2003, Serena et al., 2004)
Activités anti-inflammatoire de phycocyanine	(Romay et al., 2003 ; Romay et al., 1998)
Activité anticancéreuse de phycocyanine	(Pardhasaradhi et al., 2003 ; Liu et al., 2000 ; Reddy et al., 2003 ; Subhashini et al., 2004)
Activité anticancéreuse de calcium-spirulan	(Mishima et al., 2009)
Activités Hépatoprotection de phycocyanine	(Vadiraja et al., 1998 ; Ramirez et al., 2002)
Activité sur le système immunitaire	(Qureshi, 1994 ; Hayashi et al., 2006)

Activité antivirale de calcium-spirulan	(Hayashi et Hayashi, 1996)
Activité anticoagulante de calcium-spirulan	(Hayakawa et al., 1996)
Effets contre le diabète, l'obésité et la circulation sanguine	(Belay et al., 2002)
Effets protecteurs contre les radiations	(Belay et al., 2002)
Effets contre l'hyperlipidémie	(Venkataraman et al., 1983)
Activité pour diminuer le cholestérol	(Ramamoorthy et al., 1996 ; Samuels et al., 2002 ; Doumandji et al., 2011)

Dans les pays développés, le véritable essor de la spiruline n'est apparu qu'à partir des années 90 lors de la découverte de molécules actives comme la phycocyanine ou le calcium-spirulan. De nombreuses études leur ont reporté des activités anti oxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales ou encore des capacités hépatoprotectrices ou modulatrices de l'immunité (Tableau 5).

I.9. Toxicité et surdosage de la spiruline

Toutes les activités qui viennent d'être énumérées démontrent le grand potentiel de la spiruline et de ces constituants. Cependant pour une utilisation alimentaire ou pharmaceutique, il est nécessaire de savoir s'il existe un risque toxicologique ou bactériologique pour une consommation courante chez l'homme.

En ce qui concerne les métaux lourds, la spiruline d'origine naturelle peut présenter une certaine contamination liée à la nature géologique des régions où elle croît. Alors, la spiruline commercialisée provient exclusivement de bassins industriels ou artisanaux dont les milieux de culture sont strictement contrôlés et exempts de tout contaminant chimique.

Quant à l'éventuelle contamination microbiologique, elle est impossible dans une culture habituelle, puisque le milieu utilisé présente des conditions de vie telles (pH fortement basique) qu'aucune bactérie autre que la spiruline ne peut s'y développer. La spiruline a pendant des siècles servis d'alimentation traditionnelle au peuple tchadien des Kanembous et aux Aztèques mexicains de la vallée du Tex coco, sans que jamais ne soit décrite dans la littérature une seule complication pour surdosage (**Girardin-Andréani, 2005**).

I.10. Réaction allergiques

Contrairement à l'immense majorité des aliments courants, la spiruline ne semble pratiquement pas provoquer de réactions allergiques que ce soit par ingestion ou par contact (**Falquet et al., 2006**); sauf le cas isolé d'un garçon de treize ans ayant présente une crise d'urticaire avec asthme après avoir absorbé cinq comprimés de spiruline (**Pétrus et al., 2010**).

I.11. Marché de la spiruline

La production mondiale a régulièrement augmenté surtout depuis 1995. De 1400T en 1995, 3500T en 2000, elle est supérieure à 5000T en 2004(Langlade et al., 2010). La Spiruline répond à la législation sur les compléments alimentaires. Elle est vendue localement en Afrique à un prix commercial allant généralement de 20€ à 28€ le kg (rarement à plus de 40€ le kg), très variable selon le prix de revient, mais relativement bon marché (Langlade et al., 2010). Dans les pays développés, les prix sont beaucoup plus élevés. Sous forme de paillettes, la Spiruline est vendue de 150€ le kg pour de faibles quantités à 44€ le kg pour de grandes quantités ; sous forme de comprimés, 200€ le kg ; sous forme de gélules, 500€ le kg. Les prix de gros sont pratiqués sur la poudre vendue en grande quantité (minimum 100kg). Pour les productions industrielles ils oscillent aujourd'hui de 16€ à 19€ le kg en qualité « humaine » et de 7,65€ à 12,75€ le kg en qualité « animale ». Pour la Spiruline issue des productions artisanales en France, les prix pratiqués sont d'environ 75€ le kg (prix de gros) et de 130€ le kg (prix au détail). La Spiruline est aussi vendue sous forme de composant comme la phycocyanine. Le marché de la Spiruline est largement ouvert et se développe (Langlade et al., 2010).

Actuellement Le marché de la spiruline est occupé par de grandes entreprises, qui produisent de forts tonnages et possèdent de grands bassins de culture. Le premier pays producteur est la Chine qui fournit près de la moitié du marché, suivie par les Etats-Unis. La France y tire également des bénéfices à travers les fermes de production ou les organismes revendeurs (Langlade et al., 2010).

I.12. La spiruline en Algérie

L'Algérie fait partie des rares pays dans le monde où on cultive de la spiruline, mais on est au stade de la production artisanale et expérimentale et cela depuis 1998, la seule et unique ferme est celle de Hiri Abedelkader, situé à la région de Tamanrasset.

La formation et la sensibilisation des Algériens sur les méthodes de culture de spiruline peuvent avoir des conséquences notables sur le recule de la malnutrition dans notre pays.

La valeur nutritionnelle et les apports socio-économiques apportés par la spiruline dans les autres pays en voie de développement, ou dans les pays in montrent combien il est important d'intégrer les projets de production de spiruline dans la lutte contre la malnutrition et le développement durable des localités.

L'avantage indéniable de la spiruline est que toutes personnes quelles que soient leur état physique ou psychique peuvent la consommer sans risques d'effets secondaires ou de surdosage lorsque les prescriptions sont respectées.

CHAPITRE II
GENERALITES SUR
L'ENCAPSULATION DES
ALI MENTS

1. Généralités sur l'encapsulation des aliments

Dans l'industrie alimentaire, l'encapsulation est un moyen idéal en vue de masquer les goûts indésirables de certaines substances telles que les vitamines. Elle peut permettre aussi d'éviter les interactions entre les différents composants d'un complexe alimentaire et de protéger les principes actifs vis-à-vis de l'oxydation (protection des arômes) ou encore de l'humidité (protection du sel et du sucre) (**Heinzen 2002 ; Pothakamury et al., 2002**). Elle permet de garder le parfum, de prolonger la durée de conservation et d'ajuster la saveur alimentaire.

1.1. Intérêts de l'encapsulation

- Permet le masquage du goût ou libération du goût, dissolution et libération dans l'estomac (ou plus loin) ;
- Facilite l'utilisation des produits d'origine liquide, ou dans les cas des poudres ;
- Permet de contrôler la libération de la substance encapsulée, en fonction du pH, de la température, ou par contrainte mécanique ;
- Garantit une bonne protection de la substance encapsulée contenu vis-à-vis d'une autre molécule (Pb d'incompatibilité), et de l'environnement extérieur (lumière, pH).

1.2. Libération contrôlée d'un principe actif (PA)

Par définition, le rôle d'un système à libération contrôlée est de délivrer la bonne quantité d'un PA, au bon endroit et au bon moment (**Dziezak, 1988**). Ces techniques de libération contrôlée sont surtout utilisées en pharmacie, en cosmétique et en industrie alimentaire. Au niveau de la capsule, le principe actif est libéré soit brutalement : libération déclenchée, soit progressivement.

Les avantages de la libération contrôlée sont (**Brannon-Peppas, 1993**).

- Les substances actives libérées sur un site à un moment désiré ;
- La perte limitée des ingrédients pendant la fabrication et la cuisson ;
- La séparation des composés réactifs ou incompatibles.

1.3. Les gélules ou capsules dures

1.3.1. Définition

Les premières capsules de gélatine ont été créées par deux Pharmaciens français, Mothe et Dublanc, en 1833 (**Vidal-Tessier, 1988**). Les gélules désignent une forme galénique de médicament, solide, que l'on avale.

Une gélule est composée de deux demi- capsules très minces à fond hémisphérique s'emboîtant exactement l'une dans l'autre. Il en existe différents types classés selon leurs tailles, leurs compositions et leurs couleurs.

1.3.2. Différents types de gélules

La plupart des gélules vides sont constituées de gélatine (matière physiologiquement inerte, neutre et inodore) associé à d'autres substances dont la consistance peut être adaptée par addition,

par exemple, de glycérol ou de sorbitol. Ce type de gélule est uniquement fabriqué en industrie : il consiste à plonger des formes métalliques spéciales dans des solutions de gélatine, il se forme ainsi un film autour du moule métallique qui est séché. Les demi -capsules sont préparées sur deux chaînes parallèles, une pour les couvercles et l'autre pour les fonds (Rudolph et al., 2003).

1.3.2.1. Selon leur composition

- **La gélule 100% végétale** est composée de dérivés de cellulose et ne contient pas de colorants. Elle est surtout utilisée pour contenir des poudres de plantes. Elle ne présente aucun risque pour son utilisateur.
- **La gélule de gélatine de poisson** est naturelle puisque les poissons sont nourris de végétaux. Elle ne contient pas d'odeur, se dissout correctement et n'entraîne pas d'allergies. Cette gélule porte le nom d'Aquacaps. Elles ont été créées pour remplacer les anciennes gélules de gélatine animale.
- **La gélule entérique** est utilisée pour que son principe actif soit dénaturé par l'activité de l'estomac.
- **La gélule à enrobage gastro-résistant** : c'est une opération qui peut être réalisée en officine. On recouvre les gélules terminées d'un enrobage constitué de substances et de solvants pas en milieu acide mais dont la solubilité augmente avec l'augmentation du pH.
- **Les gélules à libération modifiée** : Ce sont des capsules à enveloppe dure ou molle qui contiennent des substances auxiliaires spéciales. Elles permettent aussi de modifier la vitesse ou le lieu de libération des principes actifs.

1.3.2.2. Selon leur taille et leur couleur

L'apparence du produit n'est pas anodine. En effet, dans l'esprit du patient, la taille d'une gélule peut être proportionnelle à sa prétendue efficacité. La couleur est aussi importante pour certaines personnes, que ce soit consciemment ou inconsciemment. Les gélules sont classifiées selon leur taille définie par un numéro et leur capacité (volume) en ml, le volume croît lorsque leur numéro décroît (Tableau 6).

Tableau 6 : Classification des gélules selon leurs tailles.

Taille n°	Volume (ml)	Longueur (mm)	Diamètre (mm)	Masse (mg)
5	0.13	10.7	4.45	27
4	0.20	13.6	4.85	44
3	0.35	15.2	4.35	55
2	0.40	17.2	5.85	66
1	0.50	18.7	6.40	80

0	0.70	20.9	7.10	105
00	0.90	23.0	7.95	130
000	1.40	26.1	9.30	170

Il existe huit tailles de gélules classées par numéro, la n°5 étant la plus petite et la N°000 la plus grande.

1.3.3. Conservation

Le stockage des gélules vides devrait être fait à une température comprise entre 20 et 25°C et une humidité relative de l'air de 3 à 70 %. Les capsules vides renferment généralement 14 à 16 % d'eau, pour des degrés hydrométriques trop faibles elles peuvent devenir friables et dures tandis que pour des taux d'humidité élevés, les capsules peuvent devenir molles et se déformer (**Rudolph et al., 2003**).

1.3.4. Remplissage de la gélule

- Géluliers manuels: 2 plaques en plastique qui se superposent parfaitement, le socle et la partie supérieure perforée ;
- Séparation des corps et des têtes des cupules ;
- Mise en place dans les alvéoles des corps des gélules ;
- Remplissage par arasage: les corps des gélules sont remplis à ras bord avec le mélange de poudres à l'aide d'une carte à jouer ;



Figure 11 : gélule de spiruline (Simplicity Spirulina Farm-Inde, 2008).

- Tasser légèrement ;
- Mettre les coiffes sur les corps de gélules et les fermer une à une entre deux doigts ;
- Essuyer les gélules pour enlever les traces de poudres ;
- Conditionnement des gélules dans un sachet en papier ou une petite boîte en carton ;
- Etiquetage de la préparation conformément à la législation ;

Remarque: géluliers semi automatiques (séparation automatique du corps et des coiffes, remplissage puis mise en place automatique des coiffes).

1.3.5. Fabrication des gélules dans l'industrie

Le remplissage industriel se fait à l'aide de Géluleuse (Figure12) : deux trémis d'alimentation, le premier permet d'incorporer le mélange actif, le deuxième dans lequel on introduit les enveloppes vides fermées, les deux arrivent en même temps. Les gélules sont ouvertes par une micro pompe, elles sont remplies avec le mélange actif puis fermées cde manière sécurisée avant d'être éjectées. La fermeture peut être renforcée entre les 2 cupules afin qu'elles ne soient pas ouverte en soudant les 2 cupules à leur jonction à chaud ou par verrouillage mécanique par pression (Lüsher, 1999).



Figure 12 : Géluleuse manuelle (Simplicity Spirulina Farm-Inde, 2008).

1.3.6. Les contrôles des gélules

1.3.6.1. Essais sur les gélules vides

- Identification des colorants et des opacifiants, recherche des métaux lourds.

1.3.6.2. Essais sur les gélules pleines

- Uniformité de masse, On pèse individuellement 20 gélules (échantillon). Puis, on les ouvre, on les vides et on pèse les enveloppes. Par différence on a le poids du contenu.
- Uniformité de masse: aucune unité doit s'écarter de plus de 2 fois des ces écarts limites (Tableau7).

Tableau 7 : Tolérance de la Pharmacopée Européenne pour l'uniformité de masse.

Écarts limites acceptables	Avec écarts tolérés pour 2 unités au plus
Si poids < 300mg ± 10%	± 20%
Si poids > ou = 300mg ± <7,5%	± 15%

Temps de désagrégation: temps limite de 30 min à 37°C, Pour les gélules gastro-résistantes 2 heures dans un milieu HCl et dans un pH 6,8, la gélule doit se désagréger dans moins d'une heure ;

- Essais de dissolution ;
- Les gélules doivent être contrôlées visuellement pour détecter tout incident de fermeture, de casse ou d'inhomogénéité de couleur.

1.3.7. Avantages Et Inconvénients

1.3.7.1. Avantage

Les gélules présentent de nombreux avantages qui justifient leur emploi, elles permettent (Rudolph et al., 2003) :

- De masquer un goût désagréable, une saveur amère ou même insipide ;
- De cacher des principes essentiels une odeur peu supportable (vitamines B) ;
- L'administration de substances sensibles à l'humidité (antibiotiques) ;
- La répartition de doses individuelles précises ;
- Une bonne mise à disposition de l'organisme des principes actifs qu'elles contiennent ;
- L'obtention de formes gastro-résistantes ou entérosolubles par traitement spécial ;
- Le prélèvement du contenu pour les personnes âgées ou les jeunes enfants ;
- L'administration de substances liquides ou pâteuses.

1.3.7.2. Inconvénients

Les gélules ont aussi, comme toute forme galénique, des inconvénients.

- les gélules à base de plantes ont un prix relativement élevé.
- Interactions adhésives : La muqueuse oesophagienne constitue une zone favorable à l'adhésion car, d'une part, elle est relativement peu hydratée et, d'autre part, en raison du temps de transit très court, les formes galéniques arrivant à son contact ne se trouvent pas encore complètement hydratées. Une adhésion oesophagienne doit être

absolument évitée car elle est susceptible d'entraîner des effets secondaires indésirables ;

- Retard de transit, capable de se traduire par un retard d'absorption interactions principe actif muqueuse (gêne, douleur) ; dans certains cas graves, peuvent être à l'origine de perforations, voire d'ulcères et d'hémorragies (nécessité de diluer le PA); Il est fortement conseillé de les absorber avec de l'eau et en position assise ; Une gélule est non fractionnable.

1.4. Les comprimés

1.4.1. Définition

Les comprimés sont des préparations de consistances solides, contenant un ou plusieurs principes actifs. Ils sont obtenus par compression simple ou multiple. Ils peuvent être enrobés ou non. Ils sont généralement destinés à voie orale et on peut distinguer.

- Les comprimés nus (non enrobés) ;
- Les comprimés enrobés ;
- Les comprimés spéciaux.

1.4.2. Les différents types de comprimés

1.4.2.1. Les comprimés non enrobés

Une seule couche ou multi couches obtenus par compression, les comprimés effervescents, destinés à être dissous ou dispersés dans l'eau avant administration.

1.4.2.2. Les comprimés enrobés

Enrobage classique: surface recouverte d'une ou plusieurs couches de résines naturelles ou synthétiques, de gomme, aromatisants, colorants, si l'enrobage est très mince: comprimé pelliculé. Le comprimé est enrobé, pour obtenir un effet particulier (comme la gastro-résistance) ou pour cacher la couleur ou un goût désagréable ou encore, avoir une couleur « commerciale ». Comprimé pelliculé, L'enrobage est en général un film polymère très fin utilisé pour cacher la couleur ou le goût du médicament.

1.4.2.3. Les comprimés gastro-résistants

Des excipients, un pelliculage ou un enrobage particulier font que le médicament ne se dissout pas dans l'estomac afin de protéger la substance active des sucs gastriques acides ou pour protéger l'estomac d'un effet néfaste de la substance active (par exemple les AINS tels l'aspirine empêchent l'estomac de se protéger contre sa propre acidité. Un ulcère peut alors apparaître. L'enrobage doit retarder l'action du suc gastrique (**Alvarez-Lorenzo et al., 2000**)).

1.4.2.4. Les comprimés à libération modifiée

Sont enrobés ou non, préparés avec des substances spéciales destinées à modifier volontairement la vitesse ou le lieu de libération du ou des principes actifs.

1.4.2.4.1. Comprimé à libération prolongée

Des excipients, un pelliculage ou un enrobage particulier font que la substance active va se libérer lentement tout au long du transit intestinal. Cela permet de maintenir l'effet du médicament sur plusieurs heures et de réduire le nombre de prises par jour (**Allen, 1988**).

1.4.2.4.2. Comprimé à libération modifiée

Des excipients, un pelliculage ou un enrobage particulier font que la substance active va se libérer à un moment particulier, en général sur une fenêtre d'absorption (la substance active n'est absorbée qu'à un endroit particulier de l'intestin.)

1.4.3. Formulation des comprimés

La formulation pharmaceutique consiste à associer au(x) principe(s) actif(s) des adjuvants (des excipients) choisis en fonction de la qualité qu'ils peuvent conférer à l'ensemble de la formule. La classification suivante permet de définir les différents adjuvants et de préciser leur impact sur le comportement des poudres (**Alvarez-Lorenzo et al., 2000**).

1.4.3.1. Les différents types d'excipients

Les excipients sont d'origine naturelle, semi-synthétique, synthétique ; donc ils sont souvent choisis dans le domaine alimentaire : amidon, lactose, huile végétale, aromatisant (**Hir, 2001**).

1.4.3.1.1. Les diluants

Ils jouent un rôle de remplissage lorsque la quantité de principe actif est insuffisante pour faire un comprimé, ce sont des poudres dites inertes, généralement choisies en fonction de leurs propriétés secondaires : hydrosolubilité, pouvoir adsorbant ou absorbant, pH et propriétés rhéologiques. Il s'agit d'amidons, de sucres (lactose, saccharose, fructose), et des sels minéraux (**Guyot, 1978**).

1.4.3.1.2. Les liants ou agglutinants

Permettent de favoriser la liaison des particules de poudre entre elles qui ne pourraient pas s'agglomérer en leur absence (cellulose microcristalline, carboxyméthylcellulose, PEG, gomme, amidon, gélatine ; Ils permettent de réduire la force de compression et ils peuvent être utilisés soit à l'état sec, soit le plus souvent en solution (ou pseudo-solution) aqueuse ou alcoolique (**Guyot, 1978**), en cas de granulation. Ce groupe de matériaux a la capacité de favoriser les liaisons interparticulaires.

La plupart des excipients hydrophiles qui donnent des solutions visqueuses peuvent être employés comme liants : gomme arabique, méthylcellulose, gélatines, amidons, polyéthylène glycol (PEG) 4000 et 6000 (en poudre pour la granulation sèche) (**Guyot, 1978**).

1.4.3.1.3. Les lubrifiants

Ils ont un triple rôle dans la fabrication d'un comprimé (**Guyot, 1978**):

- Pouvoir glissant ou régulateur d'écoulement : amélioration de la fluidité du grain donc du remplissage de la chambre de compression, permettre d'obtenir un comprimé de poids constant (uniformité de masse).
- Pouvoir antifriction : réduction des frictions entre les particules ce qui assure une meilleure transmission de la force de compression dans le mélange à comprimer
- Pouvoir anti-adhérent : diminution de l'adhérence des particules ou grains aux poinçons et à la matrice.

En plus de ces trois rôles, un lubrifiant apporte un aspect brillant et non poussiéreux aux comprimés.

1.4.3.1.4. Les délitants ou désintégrants

Ils accélèrent la désintégration du comprimé et donc la dispersion des composants dans l'eau. Ce sont soit des produits de solubilité différente du principe actif (hydrosolubles si le principe actif est peu soluble dans l'eau), ou des produits hydrophiles gonflant dans l'eau. Ils favorisent la pénétration de l'eau dans le comprimé et donc l'écartement des grains. Pour un effet optimal, ils sont incorporés à sec juste avant la compression dans des proportions de l'ordre de 2 à 5 % (**Guyot, 1978**).

1.4.3.2. Les adjuvants divers

1.4.3.2.1. Les mouillants

Les surfactifs peuvent être utilisés pour compenser les propriétés trop hydrofuges de certains constituants et ainsi favoriser la mouillabilité. Cependant, ils peuvent avoir l'inconvénient de rendre plus difficile le dosage du principe actif (**Guyot, 1978**).

1.4.3.2.2. Les substances tampons

Elles protègent le principe actif contre les variations de pH au cours de la conservation ou favorisent ses conditions de dissolution. Les sels de calcium, citrate de sodium, acides aminés, peuvent être utilisés (**Guyot, 1978**).

1.4.3.2.3. Les colorants

Ils sont utilisés essentiellement pour améliorer la présentation et la sécurité en limitant les confusions. Le colorant peut être ajouté dans le mélange soit à l'état sec soit en solution aqueuse ou alcoolique. Ce sont par exemple le Jaune orange, la Rouge cochenille, le Bleu patenté (**Guyot, 1978**).

1.4.3.2.4. Les adsorbants et absorbants

Ils retiennent certains constituants volatils et permettent l'incorporation de produits liquides ou visqueux au sein du comprimé. Silice, cellulose microcristalline, sont utilisées (**Allen, 1988**).

1.4.3.3. Rôle des excipients

Les excipients sont utilisés dans la fabrication des comprimés. Les excipients jouent un rôle de vecteur (véhicule ou base). Ils contribuent ainsi à améliorer certaines propriétés du produit (comprimés) telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect, l'acceptation par le patient et la facilitation de fabrication. En fonction de la chimie du principe actif, les excipients sont choisis (Guyot, 1978).

1.4.4. Mode de fabrication

Il existe trois principales méthodes de fabrication d'un comprimé, le choix se faisant principalement selon les caractéristiques physico-chimiques des composants du comprimé (substance active et excipients) :

Compression directe

Mélange des poudres (principes actifs et excipients) tamisés puis compression du mélange.

Granulation humide

Formation d'agrégats solides à partir de poudres grâce à un liquide de mouillage (eau, sirop simple), puis séchage.

Granulation par voie sèche

Compression des particules qui conduit à un dégagement de chaleur permettant la formation d'agrégats.

1.4.5. Contrôles réalisés sur les comprimés

Les contrôles en cours de procédé et l'analyse à libération seuls ne sont pas suffisants pour assurer cette qualité, par conséquent tous les facteurs qui pourraient affecter la qualité de produit doivent être correctement conçus et démontrés pour fonctionner efficacement (Commission Européenne, 2010).

1.4.5.1. Contrôles du produit en cours de procédé

- **Teneur en eau** : la perte à la dessiccation peut être utilisée pour déterminer si le séchage a été suffisant.
- **Distribution granulométrique** : attribut très important qui peut influencer la résistance, l'épaisseur, la désintégration, la dissolution, la variation de masse et l'uniformité de teneur des comprimés. Cet attribut, testé par analyse granulométrique.
- **Homogénéité de répartition du principe actif dans le mélange** : des échantillons de mélange sont prélevés et analysés pour assurer que le principe actif est réparti dans le mélange de manière uniforme. Le temps de mélange le plus adapté doit être établi pour éviter les difficultés d'homogénéité. La technique de prélèvement des échantillons est critique pour valider ce test.

- **Masse individuelle des comprimés/gélules** : la masse individuelle des comprimés ou des gélules est déterminée tout au long de l'étape de compression ou de remplissage pour assurer que le mélange s'écoule correctement et que l'équipement fonctionne convenablement ;
- **Résistance des comprimés** : la résistance des comprimés est déterminée régulièrement pendant la compression pour assurer que le procédé est toujours sous contrôle ;
- **Épaisseur des comprimés** : l'épaisseur des comprimés est également déterminée régulièrement et est directement reliée à la résistance et à la masse des comprimés.

1.4.5.2. Contrôles du produit fini

- **Apparence** : les comprimés doivent être inspectés pour détecter des problèmes tels que des taches, des points, des marbrures... Si les comprimés sont colorés, la qualité de la couleur doit aussi être examinée.
- **Dosage global** : ce test déterminera si le produit possède la quantité nominale de principe actif.
- **Uniformité de teneur** : des échantillons sont prélevés tout au long du lot et analysés pour assurer que la forme se conforme aux standards réglementaires ou des normes internes plus restreintes ;
- **Résistance des comprimés** : paramètre critique pour la manutention et la performance.
- **Friabilité des comprimés** : caractéristique importante des comprimés pour éviter l'endommagement des comprimés ou un empoussièremment excessif pendant les opérations de conditionnement et de stockage.
- **Dissolution** : la dissolution est importante pour assurer les caractéristiques propres à libération et l'uniformité inter-lots.

1.4.6. Avantages Et Inconvénients

1.4.6.1. Avantages

Les comprimés constituent une forme galénique très populaire parmi les préparations solides. La raison de cette domination s'explique par les avantages proposés aussi bien aux industriels qu'aux malades. En effet, la production nécessite peu d'étapes de préparation et s'effectue à des cadences élevées d'où un prix de revient moindre. Ils présentent aussi d'autres avantages qui sont les suivants (Rudolph et al., 2003) :

- Un emploi facile en raison de leur volume réduit et de leur solidité suffisante pour subir les manipulations de conditionnement et de transport,

- Un masquage par enrobage de la saveur souvent désagréable des principes actifs, moins perceptible qu'en milieu liquide,
- Une bonne conservation en milieu sec et condensé ;
- Dosage précis par unité de poids ;
- Milieu sec et condensé favorable à une bonne conservation ;
- Forme intéressante pour des PA peu solubles ;
- Prix de revient peu élevé ;
- Possibilités d'une association de plusieurs PA incompatibles (Cp. Multicouches) ;
- Prolongateur de la libération de certains PA (Cp LP).

1.4.6.2. Inconvénients

- Difficiles à mettre au point (composition) ;
- Incompatibilités de certains principes actifs ;
- Ne convient pas pour les PA liquides (sauf très faibles quantité) ;
- Forme concentrée qui peut aggraver la muqueuse digestive si le délitement est lent ;
- Sont parfois irritants pour la muqueuse gastro-intestinale.

Chapitre III:
GENERALITES SUR LES
COMPLEMENT ALIMENTAIRE

2. Généralités sur Les compléments alimentaires

Le concept de "complément alimentaire" est apparu dans les années 70 (**Masson, 2009**). Ces dernières années, l'avancée des connaissances sur les aliments a induit une avancée de la médication par des produits issus de l'alimentation. En conséquence, l'idée de la prévention des maladies par une alimentation saine et équilibrée s'est développée et a vu fleurir de nombreuses catégories d'aliments en rapport avec la santé : aliments fonctionnels, compléments alimentaires (**Masson, 2009**).

2.1. Définition

Comme son nom l'indique, un complément alimentaire sert à compléter le régime alimentaire en cas de besoin, et qui constituent tous les éléments essentiels (vitamines, minéraux, fibres, acides aminés et acides gras) ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés.

Commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unités mesurées de faible quantité (**Villepin et al., 2006**).

2.2. Utilisation des compléments alimentaires

Les compléments alimentaires servent à (**Frély, 2012**) :

- Compléter l'alimentation courante afin de procurer à l'organisme les aliments nécessaires à la conservation et à l'équilibre de capitale santé ;
- Couvrir tout ou partie des apports quotidiens recommandés.
- Améliorer ses performances physiques et/ou intellectuelles ;
- Donner un coup de fouet à notre mémoire et à notre capacité de réflexion, Booster sa libido, accélérer son régime, retrouver des jambes légères, une peau éclatante, des cheveux et des ongles solides, être moins fatigué, retrouver un sommeil réparateur, entretenir une bonne forme physique et mentale, mieux gérer les situations de stress et de surmenage, renforcer ses défenses immunitaires.

2.3. Distinction avec les médicaments

La différence principale avec les médicaments est donc que les compléments alimentaires ne présentent aucune fonction thérapeutique.

Tableau 8: Différences entre un médicament et un complément alimentaire (Derbre, 2010).

	Médicament	Complément alimentaire
Objectifs	Soigner ou prévenir une maladie, une pathologie	Entretenir le bien être
Cibles	Personnes malades ou susceptibles de l'être	Personnes en bonne santé souhaitent le rester
Propriétés	Thérapeutiques	Notionnelles ou physiologiques
Mise sur le marché	Autorisation de mise sur le marché	Déclaration à la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des Fraudes(DGCCRF)

2.4. Le marché des compléments alimentaires

Les compléments alimentaires sont présentés notamment sous des formes galéniques comme des gélules ou des comprimés, ce qui les rapproche insidieusement des médicaments. Contrairement aux médicaments, la commercialisation des compléments alimentaires ne nécessite pas d'autorisation individuelle de mise sur le marché (Frély, 2012).

Le concept de complément alimentaire est assez récent. Pourtant, ces dernières années, leurs ventes ont explosé, Le marché mondial en 2003 s'élève à 45 milliards d'euros (Frély, 2012), le marché français des compléments alimentaires est de 1 milliard d'euros en 2010 (Frély, 2012). Aujourd'hui, on les voit partout : dans les boutiques bios, dans les pharmacies, dans certains salons et marchés et maintenant même dans nos supermarchés ; sans oublier leur vente sur Internet qui représentent 23% (Figure 13).

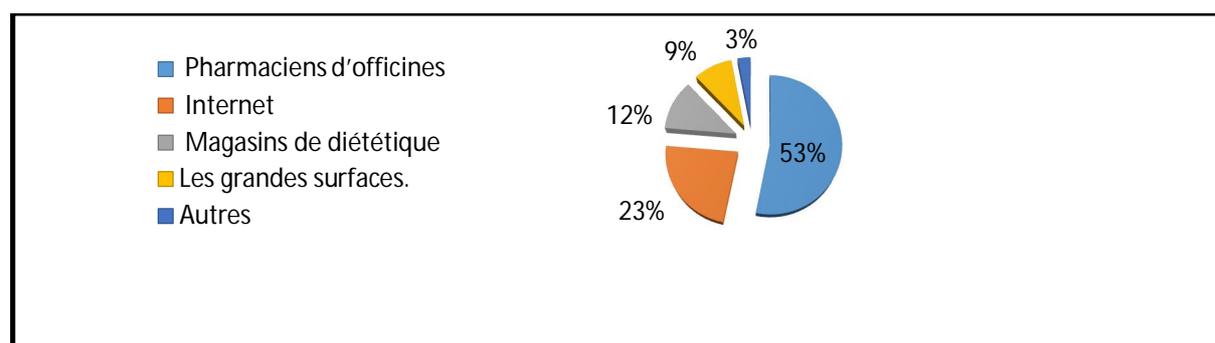


Figure 13: le marché français des compléments alimentaires en 2010.

Les raisons majoritaires de la consommation de compléments alimentaires sont, en 2009, pour accroître son tonus (62,4 %) et en 2006 pour améliorer son sommeil (47,9 %) (Villepin et al.,2006). La raison de la prise de compléments alimentaires fait suite à une publicité dans 34 à 64 % des cas, à un conseil médical sans prescription dans 26 % des cas, à un conseil pharmaceutique dans 21 à 29 % des cas, et à une prescription médicale dans 20 à 25% des cas selon une enquête du CREDOC (Mathe et al., 2008) réalisées entre 2006 et 2009.

2.5. Réglementation des compléments alimentaires

2.5.1. Réglementation en Europe

Les compléments alimentaires sont encadrés au niveau européen par une directive de 2002 (**JOCE N°183, 2002**), transposée en droit français dans le code de la consommation par un décret de 2006 (**JOCE N°267, 2006**). Ils font partie des denrées alimentaires.

La fabrication des compléments alimentaires doit respecter les normes HACCP : (analyse des risques et points de contrôle critiques). Ce système permet d'identifier et de traiter tous les dangers chimiques, biologiques et physiques de l'industrie alimentaire. Cela signifie, entre autres, que des contrôles de contamination sont effectués et que le fabricant doit suivre des procédures d'hygiène strictes au cours de la production.

La directive 2002/46/CE du Parlement Européen relative aux compléments alimentaires contient ainsi une liste des substances vitaminiques et minérales autorisées qui peuvent être ajoutées à des fins nutritionnelles particulières aux compléments alimentaires (tableau 9).

L'inclusion des substances vitaminiques et minérales dans cette liste positive ne peut se faire qu'après l'évaluation par l'EFSA d'un dossier scientifique adéquat apportant toutes les informations nécessaires sur la sécurité et la biodisponibilité de chaque substance individuelle. Les sociétés souhaitant commercialiser une substance ne figurant pas dans la liste des substances autorisées doivent soumettre une demande à la Commission Européenne.

Complément alimentaire du futur, énergisante, bourrée de nutriments, des propriétés anti-âge et anti-cancer, permettant même de contrôler son poids ou de construire du muscle. La spiruline semble bonne à tout faire et convenir à tout le monde. Difficile alors d'y croire et de ne pas y voir un nouveau produit miracle sponsorisé par un effet de mode.

2.5.2. Composition qualitative et quantitative

Devant l'explosion du marché des compléments alimentaires et l'engouement croissant des consommateurs les autorités européennes ont pris des mesures afin de protéger la santé du consommateur. Elles ont donc instauré un cadre législatif commun à tous les états membres, afin d'encadrer les pratiques commerciales et de renforcer la protection et l'information des consommateurs. Alors 13 vitamines et 15 minéraux peuvent être utilisés pour la fabrication des compléments alimentaires en Europe (**JOCE N°043, 1997**) (Tableau 9).

Tableau 9: Les doses journalières maximales.

Vitamins						
A	D	E	K	B1	B2	B3Nicotinamide
800 µg	5µg	30mg	25µg	4,2mg	4,8mg	54 mg
B5	B6	B8	B9	B12	C	B3 Acide nicotinique
18mg	2mg	450µg	200µg	3µg	180mg	8mg
Minéraux						
Ca	Mg	Fe	Cu	I	Zn	Mn
800mg	300mg	14mg	2mg	150µg	15mg	3,5mg
K	Se	Cr	Mb	F	P	
80mg	50µg	25µg	150µg	0 mg	450mg	

2.5.3. Les allégations

Le règlement (CE) N° 1924/2006 du Parlement Européen et du conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires (**JOCE N°404, 2006**) définit une allégation de santé comme tout message ou représentation « qui affirme, suggère ou implique l'existence d'une relation entre d'une part, une catégorie de denrées alimentaires, une denrée alimentaire ou l'un de ses composants, et d'autre part, la santé ».

Les allégations sont divisées en trois catégories (**JOCE N°404, 2006**).

- Les allégations nutritionnelles elles font référence à la teneur d'un nutriment dans un aliment. Elle indique par exemple « riche en calcium » ou « représente 30 % des apports journaliers recommandés en vitamine C ».
- Les allégations santé qui font le lien direct entre une denrée alimentaire ou un de ses composants et la santé du consommateur.
- Les allégations relatives à la réduction d'un risque de maladie qui mettent en avant le fait que la denrée consommée permettra de réduire le développement d'une maladie humaine.

Conformément au droit commun, ces différentes allégations ne peuvent être employées sur l'étiquetage ou dans la publicité si :

- Elles sont trompeuses, inexactes ou ambiguës
- Elles suscitent des doutes au niveau de la sécurité du consommateur
- Elles encouragent la surconsommation du produit mis en avant

- Elles exploitent la crainte du consommateur en mentionnant des modifications des fonctions corporelles

De plus, il est interdit pour toute allégation de faire croire au consommateur qu'une alimentation équilibrée ne suffit pas à sa santé et ne lui fournit pas les nutriments essentiels en quantité appropriée.

2.5.4. Etiquetage et publicité

L'étiquetage des compléments alimentaires est régi par 3 textes réglementaires européens :

- La directive européenne 2000/13/CE (**JOCE N°109, 2000**)
- La directive 1924/2006 du parlement européen et du conseil du 20 décembre 2006 (**JOCE N°404, 2006**)
- L'article 10 du décret N° 2006-352 du 20 mars 2006 (**Villepin et al., 2006**).

L'étiquetage des compléments alimentaires, leur présentation et la publicité qui en est faite ne doivent pas attribuer à ces produits des propriétés de prévention, de traitement ou de guérison d'une maladie humaine, ni en évoquer ces propriétés.

Le complément alimentaire ne peut pas être présenté comme possédant des propriétés thérapeutiques ou curatives vis-à-vis d'une pathologie et ne peut donc pas se substituer au médicament.

L'étiquetage doit également exposer de façon claire et chiffrée la quantité de nutriments contenus dans les doses journalières recommandées par le fabricant. Les vitamines et minéraux devront aussi être exprimés en pourcentage par rapport aux valeurs de références (**JOCE N°109, 2000**).

Les mentions obligatoires sur l'étiquette sont les suivantes:

- Le terme « complément alimentaire » doit figurer sur l'emballage, ainsi que le nom des familles de nutriments utilisés (par exemple : vitamines ou minéraux).
- La liste complète des ingrédients est obligatoire. Comme pour les aliments, ceux-ci sont indiqués par ordre décroissant en quantité, avec l'ingrédient le plus abondant en premier.
- Des conseils d'utilisation doivent être proposés, accompagnés de précautions d'emploi comme la dose quotidienne maximale.
- Les quantités de nutriments doivent être indiquées en pourcentage de l'apport journalier recommandé (AJR) pour une dose quotidienne.
- Une date de péremption doit être indiquée, ainsi que des informations sur les conditions de conservation.
- La présence de substances pouvant provoquer des allergies doit être mentionnée.

Par ailleurs, les mentions facultatives ou interdites sur l'étiquette sont les suivantes:

- Les industriels sont incités à donner des conseils d'hygiène de vie pouvant renforcer les effets du complément.
- Il leur est interdit de suggérer qu'une alimentation équilibrée et variée ne constitue pas une source suffisante de nutriments.

2.6. Intérêt de la prise de compléments alimentaires

2.6.1. Les besoins nutritionnels

Les besoins nutritionnels correspondent à la quantité de nutriments nécessaires pour assurer l'entretien, le fonctionnement métabolique et physiologique d'un individu en bonne santé. C'est la quantité de nutriments réellement absorbée qui est prise en compte, c'est-à-dire après absorption intestinale, permettant la constitution et le maintien des réserves. Les besoins nutritionnels moyens sont donc définis selon le sexe, l'âge et une éventuelle situation physiologique particulière (comme la grossesse), par une approche expérimentale, l'absorption des nutriments variant d'un individu à l'autre (**Potier et al., 2003**).

2.6.2. Les Apports Nutritionnels Conseillés (ANC)

Les Apports Nutritionnels Conseillés (ANC) correspondent aux normes définissant les besoins nutritionnels nécessaires à apporter pour 97,5% de la population (**Potier et al., 2003**).

2.6.3. Les Apports Journaliers Recommandés (AJR)

Les Apports Journaliers Recommandés (AJR) correspondent aux valeurs européennes utilisées notamment pour l'étiquetage des produits alimentaires. Ils sont proches des ANC, les valeurs des AJR leur étant souvent légèrement inférieures (**Potier et al., 2003**).

2.6.4. Energie brute(EB)

La valeur énergétique des aliments s'obtient en multipliant la teneur en glucides, lipides et protéines, obtenue par les analyses physico-chimique par les facteurs de (Tableau 10).

Tableau 10 : valeur énergétique

Elément	Valeur énergétique (kcal/g)
Glucide	4
Lipides	9
protéines	4

2.6.4.1. La prise de compléments alimentaires chez un individu sain

Selon l'ANSES, les déficits et les carences en nutriments sont très rares en population générale et concernent majoritairement des groupes particuliers de population (femmes enceintes, personnes âgées en institution, populations en situation de grande précarité...). De plus, « dans ces groupes de populations spécifiques, des apports supplémentaires en vitamines, minéraux et autres nutriments par les compléments alimentaires ou l'alimentation enrichie peuvent présenter un intérêt, mais leur indication dans ces situations relève plus du conseil médical que d'une démarche alimentaire individuelle non éclairée (**ANSES, 2010**).

2.6.4.2. La prise de compléments alimentaires chez un sportif

La nutrition du sportif est reconnue comme un élément essentiel de sa réussite sportive. S'il existe selon les sports des besoins spécifiques démontrés scientifiquement et nécessitant alors des apports spécifiques, la nutrition du sportif doit tout d'abord être équilibrée et variée, comme pour le reste de la population. La consommation de compléments alimentaires ne doit être motivée que par la nécessité de compléter des apports nutritionnels insuffisants que le médecin ou le diététicien est en mesure d'évaluer. Dans le cas contraire, elle peut risquer de positiver un contrôle antidopage (**Frély, 2012**).

2.6.4.3. La prise de compléments alimentaires la femme enceinte

La femme enceinte a des besoins métaboliques différents de la population générale s'expliquant notamment par la croissance foeto-placentaire. Pour répondre à ces modifications, des ajustements physiologiques sont réalisés par le corps : au niveau hématologique (le volume plasmatique augmente de plus de 40%), au niveau gastro-intestinal (pertes intestinales et urinaires, augmentation de l'absorption digestive), au niveau du métabolisme de base (hyperinsulinémie au premier trimestre se transformant en insulino résistance au troisième trimestre). Le but final est de maintenir l'homéostasie maternelle tout en couvrant les besoins du fœtus (**Frély, 2012**). La prise de compléments alimentaires chez les personnes vieillissantes et Agées

L'utilisation de compléments alimentaires chez les personnes vieillissantes peut se justifier par une diminution des apports alimentaires en micronutriments, une diminution des défenses antioxydantes et une altération des statuts en micronutriments. La diminution des apports alimentaires en nutriment s'explique par une évolution de la physiologie avec l'avancée en âge, en partie par des modifications du tractus gastro-intestinal et du pancréas qui modifient l'absorption et la biodisponibilité des nutriments (**Frély, 2012**).

2.6.5. Classification des compléments alimentaires

Les compléments alimentaires peuvent être qualifiés en fonction de leur composition. Ainsi, les ingrédients employés dans la fabrication des compléments alimentaires doivent conduire à la préparation de produits sûrs, non préjudiciables à la santé des consommateurs.

La directive 2002/46/CE relative aux compléments alimentaires, définit que seules les substances suivantes peuvent être utilisées pour la fabrication des compléments alimentaires (**JOCE N°183, 2002**):

- Les nutriments et les substances à but nutritionnel ou physiologique ;
- Les plantes et les préparations à base de plantes ;
- Les autres ingrédients dont l'utilisation en alimentation humaine est traditionnelle ou reconnue comme telle ou autorisée;
- Les additifs, les arômes et les auxiliaires technologiques dont l'emploi est autorisé en alimentation humaine (**Villepin et al., 2006**).

2.6.6. Nutriments

Les nutriments sont des substances organiques ou minérales, directement assimilables sans avoir à subir les processus de dégradation de la digestion. Ainsi, il existe la catégorie des nutriments non énergétiques et énergétiques que sont les minéraux et les vitamines. Ces deux types de nutriment comprennent une liste bien définie décrite dans l'arrêté du 17 novembre 2006 relatif aux nutriments pouvant être employés dans la fabrication des compléments alimentaires (**JOCE N°183, 2002**).

2.6.7. Substances

Les substances à but nutritionnel ou physiologique sont définies dans le décret N° 2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires : « Substances chimiquement définies possédant des propriétés nutritionnelles ou physiologiques, à l'exception des nutriments (vitamines et minéraux) et des substances possédant des propriétés exclusivement pharmacologiques (médicaments) » (**Villepin et al., 2006**).

2.6.8. Plantes

L'article 2 du décret N° 2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires donne comme définition aux plantes et préparations de plantes : « Ingrédients composés de végétaux ou isolés à partir de ceux-ci, à l'exception des nutriments (Vitamines et Minéraux) et des substances à but nutritionnel ou physiologique, possédant des propriétés nutritionnelles ou physiologiques, à l'exclusion des plantes ou des préparations de plantes possédant des propriétés pharmacologiques et destinés à un usage exclusivement thérapeutique (médicament) » (**Villepin et al., 2006**).

2.6.9. Autres ingrédients

Ce sont des ingrédients dont l'utilisation en alimentation humaine est traditionnelle ou reconnu comme telle au sens du règlement (CE) N° 258/97 du Parlement Européen et du Conseil du 27 janvier 1997 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires (**JOCE N°043, 1997**).

2.6.10. Additifs, arômes et auxiliaires technologiques

Selon l'ANSES, les additifs, arômes et auxiliaires technologiques sont ajoutés en petites quantités aux aliments lors de leur fabrication ou dans le produit fini dans un but technologique améliorer leur conservation, réduire les phénomènes d'oxydation, colorer les denrées, renforcer leur goût (**ANSES, 2010**).

L'article 4 du décret N° 2006-352 du 20 mars 2006 (**Villepin et al., 2006**) relatif aux compléments alimentaires définit les additifs, les arômes et les auxiliaires technologiques dont l'emploi est autorisé en alimentation humaine dans les conditions prévues par les décrets suivants :

Le règlement (CE) N° 1333/2008 établit les règles relatives aux additifs alimentaires utilisés dans les denrées alimentaires (**JOCE N°1333, 2008**).

Le règlement (CE) N° 1334/2008 relatif aux arômes et à certains ingrédients alimentaires possédant des propriétés aromatisants qui sont destinés à être utilisés dans et sur les denrées alimentaires (**JOCE N°1334, 2008**).

Le décret N° 2001-725 du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine (**JOCE N°180, 2001**).

PARTIE II
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

Méthode et analyses

2.7. Présentation du groupe SAIDAL

SAIDAL est une Société Par Actions, au capital de 2.500.000.000 dinars Algériens. 80 % du capital du Groupe SAIDAL sont détenus par l'Etat et les 20 % du capital restants ont été cédés en 1999 par le biais de la Bourse à des investisseurs institutionnels et à des personnes physiques (saidal.dz, 2013).

Sa vision réside dans sa capacité de se projeter dans le futur et assurer la position d'un laboratoire leader au niveau régional, national tout en perçant la marche internationale.

Le groupe SAIDAL emploie 4 500 travailleurs. Les cadres représentent 42% de l'effectif du groupe. 45% constituent l'effectif de la maîtrise et 13% à l'exécution. Le groupe qui se développe voit ses besoins en matière de ressources humaines suivre. Avec la réalisation d'autres unités, 6 000 emplois supplémentaires seront créés, dont 60% concernent des universitaires. De ce fait, SAIDAL comptera à l'avenir un nombre avoisinant les 10 000 employés (liberté 24/04/2010).

2.7.1. Historique

L'entreprise nationale de production pharmaceutique avait pour mission d'assurer le monopole de la production et de la distribution des médicaments, produits assimilés et réactifs ainsi d'approvisionner des quantités suffisantes pour la couverture du marché algérien.

Elle changea de dénomination en 1985 pour devenir SAIDAL. En 1989, suite à la mise en œuvre des réformes économiques dotée d'une autonomie de gestion et fut choisie parmi les premières entreprises nationales pour acquérir le statut de sociétés nouvelles ou filiales.

En 1997, SAIDAL a mis en œuvre un plan de restructuration qui s'est traduit par sa transformation en groupe industriel le 2 février 1998 auquel sont rattachées trois filiales (Pharmal, Antibiotical et Biotic).

Actuellement Le groupe Saidal est composé de quatre filiales (Hammadi, 2010).

- La filiale Pharmal : trois usines (Dar El-Beida, Constantine, Annaba) ;
- La filiale Biotic : quatre usines (Batna, El-Harrach, Cherchell, Gué de Constantine) ;
- La filiale Antibiotical : spécialisée dans la production des antibiotiques ;
- La filiale Somedial : un joint-venture entre le groupe algérien et un groupement pharmaceutique européen dans lequel SAIDAL a réévalué sa prise de participation.

2.7.2. Présentation de l'unité biotical Médéa

Cette filiale située à Médéa (80 km d'Alger) est spécialisée dans la production des antibiotiques, (Figure 14) pénicilliniques et non pénicilliniques. Elle est dotée des installations nécessaires à la fabrication des médicaments depuis l'obtention du principe actif jusqu'à sa mise en forme galénique. Cette filiale dispose d'une unité pour la production des principes actifs pénicilliniques et non pénicilliniques par fermentation /semi synthèse.



Figure 14 : Photographie de complexe SAIDAL anti biotique-Médea (**Saidal.dz**)

2.8. Matériel et méthodes

2.8.1. Matériel

2.8.1.1. Verreries

- Tubes à essais en verre de 25ml
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées 1mL, 10mL
- Burettes graduées
- Eprovettes graduées (500mL, 1000mL)
- Bécher de 500 mL
- Flacons en verre de 250mL
- Erlenmyer
- Ballon jaugé de 1000 mL

2.8.1.2. Appareillages

- Bec bunzen
- Etuve d'incubations
- Réfrigérateurs pour stocker les milieux de cultures et les échantillons
- Four Pasteur pour stériliser à 180°C. /30 min
- Bain Marie
- Thermomètre approprié
- Centrifugeuse
- pH mètre
- Dessiccateur
- Destilateur d'azote
- Four à moufle
- Dispositif de SOXHLET
- Rotavapeur
- Spectrophotomètre UV
- L'etuve 37°C, 44°C
- Compresseuse manuelle
- Friabilimètre
- Duromètre

- Désintégrateur
- Appareil de dissolution.

2.8.1.3. Milieux de cultures (annexe1)

2.8.1.3.1. Milieu solide

- Gélose EGTA
- Gélose viande foie (VF)
- Gélose OGA
- Gélose Hecktoen
- Gélose Chapman

2.8.1.3.2. Milieu liquide

- Milieu Schubert
- Milieu de Rothe
- Milieu d'Éva lizky
- Eaux physiologique à 0.9 % (9 g de NaCl dans 1 litre d'eau distille).
- Milieu Geolliti Gantonie

2.8.1.4. Échantillonnage

L'échantillonnage est une opération qui demande le plus grand soin, et doit être effectuée de manière à obtenir des échantillons représentatifs du produit.

2.8.2. Matériel Algale, la spiruline

La spiruline dont on dispose (annexe3) est une micro-algue en forme de petits granulés secs de couleur verte (Figure 15).

Elle a été l'objet de plusieurs recherches et publications scientifiques en Algérie, outre l'intérêt des scientifiques sur sa culture (**Saggai, 2008; Hacène et al., 2001**), ses effets thérapeutiques (**Doumandji et al., 2011**), comme source d'énergie (**Chader, 2007**), sur son intérêt nutritionnel par incorporation dans divers aliments quotidiens (**Doumandji et al., 2011**).

Les propriétés nutritionnelles et thérapeutiques exceptionnelles de la spiruline, sa facilité de culture, sa haute productivité et son faible coût de production par rapport aux autres produits aquacoles, nécessite une attention particulière pour son développement dans notre pays, une attention qui doit dépasser les cultures traditionnelles et les essais expérimentaux et passer à une culture et une commercialisation à grande échelle.

L'objectif de cette étude est l'élaboration d'un complément alimentaire à base de poudre de spiruline sous formes de comprimés et des gélules, pour cela la poudre de spiruline est préalablement préparée, en lui appliquant un broyage puis un chauffage à 65°C pendant 2 à 3 minutes dont le but d'assurer sa bonne qualité hygiénique (**Benahmed Djilali et al., 2013**).

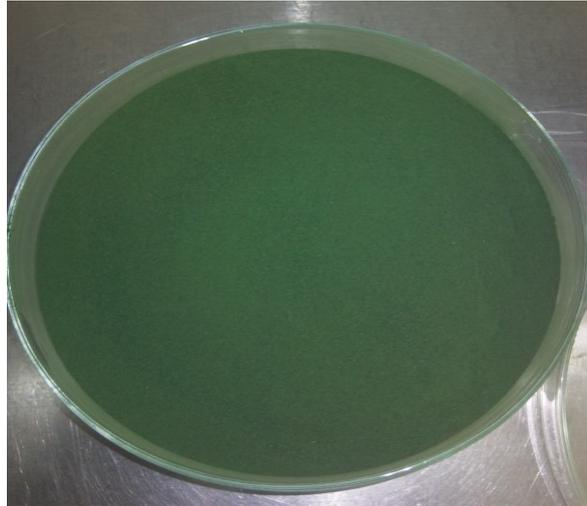


Figure 15: Aspect de la poudre de spiruline (photographie originale).

Cette poudre est conservée dans une boîte fermée hermétiquement et couverte de papier aluminium à l'abri de l'air, de la lumière et de l'humidité.

2.9. Méthodes d'analyses

2.9.1. Caractérisation physico-chimique de la poudre de spiruline

2.9.1.1. Le pH

Le pH de la solution de spiruline à 4% (4 g de poudre de spiruline diluée dans 100 ml d'eau distillée) a été déterminé à l'aide d'un pH mètre (Figure 16) préalablement étalonné. (Jourdon ,2012)



Figure 16 : photographie de pH mètre (photographie originale).

2.9.1.2. La teneur en matière sèche (Godon et Loisel,1991)

La matière sèche est la masse restante après dessiccation complète, elle est habituellement indiquée en fraction massique et elle est conventionnellement exprimée en pourcentage en masse.

Principe et mode opératoire

La teneur en matière sèche est la masse restante après dessiccation complète de la matière. Elle est conventionnellement en pourcentage massique.

Placer le panier contenant l'échantillon dans l'étuve à 102 ± 2 °C pendant 24 h. Refroidir au dessiccateur (Figure 17) puis peser.



Figure 17 : Photographie d'un dessiccateur (photographie originale).

Expression des résultats

La matière sèche, est exprimée en pourcentage selon l'équation 1 :

$$M_s = \frac{m_{v2} - m_{v0}}{m_{v1} - m_{v0}} * 100 \quad \text{Équation 1}$$

Où

M_s : Taux de matière sèche dans la spiruline ;

m_{v0} : La masse du verre de montre(g) ;

m_{v1} : La masse du verre de montre+ la prise d'essai (g) ;

m_{v2} : La masse du verre de montre+ la prise d'essai sèche(g) ;

$$H: \text{humidité (\%)} = 100 - M_s .$$

2.9.1.3. Détermination de l'acidité titrable

Le but est de mesurer approximativement la teneur totale en acides organiques naturels. Le dosage étant effectué par titrage avec une base forte (NaOH 0,1N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré (Figure 18).

La concentration des acides dans les aliments, tels que les acides acétique, citrique, lactique et malique, est déterminée par titrage d'une prise d'essai à l'hydroxyde de sodium jusqu'à virage à un pH de 8,1. (**Board, 1987**). L'acide prédominant de est l'acide citrique mono hydraté qui est utilisé dans l'expression des résultats selon une méthode normalisée.

Principe et mode opératoire

Peser à 0,01g près au moins 25 g de poudre de spiruline ;

Placer l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu' à l'obtention d'un liquide homogène ;

Adapter un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis chauffer le contenu au bain-Marie pendant 30 mn ;

Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer ;

Prélever à la pipette 25 ml du filtrat et les verser dans un bêcher ;

Ajouter 0,25 à 0.5 ml de phénolphaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée en grammes d'acide citrique pour 100 g de spiruline sèche (Équation 2) :

$$M_A = 0,07 \frac{v_1 * T}{m} * \frac{100}{v_0 * 10} \quad \text{Équation 2}$$

M_A : Taux d'acidité titrable dans la spiruline(%) ;

v_0 : Volume de la prise d'essai (ml) ;

v_1 : Le volume de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée;

T: Le titre exact de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée ;

m : La masse de la prise d'essai(g) ;

7,13 : Le coefficient de conversion en acidité titrable en équivalent acide citrique.

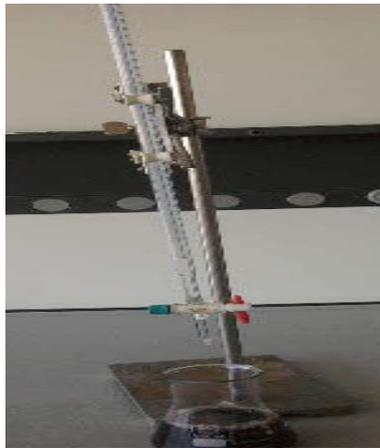


Figure 18 : Appareille de titrage (photographie originale).

2.9.1.4. La teneur en protéines

Détermination de la teneur en protéines : Méthode de Kjeldhal (**Pharmacopée Européenne, 1997**).

Principe et Mode opératoire

La méthode de Kjeldhal est basé sur la faite que la teneur en protéine est proportionnel à la quantité d'azote total dans la matière végétale (Équation 3).

Prise d'essai :

Introduire dans les matras environ 1 g de l'échantillon suivant la teneur présumée en azote et le degré de l'homogénéisation du produit.

Minéralisation :

Placer le matras sur le dispositif de chauffage, après avoir ajouté environ 5 g de catalyseur et 7 ml d'acide sulfurique concentré, chauffer doucement en agitant de temps en temps. Augmenter la température progressivement jusqu'à ce que le liquide devienne limpide et de coloration verte stable. Poursuivre le chauffage environ 2 heures et laisser refroidir les matras. Compléter en ajoutant 100 ml d'eau distillée.

Distillation :

Mettre le matras dans l'appareil à distillation (Figure 19). Alcaliser le milieu en introduisant lentement dans le matras environ 30 ml de solution NaOH (10N), il se produit un échauffement notable du produit, après rincer la paroi du circuit par l'eau distillé

L'entraînement de l'ammoniac commence peu après. L'ammoniac libéré par l'alcalisation est distillé. Le distillat est recueilli dans un erlenmeyer contenant 30 ml de la solution absorbante (solution d'acide borique et l'indicateur : rouge de méthyle+ vert de bromocrésol). Poursuivre la distillation jusqu'à récupération d'environ 100 ml de distillat.

Titrage :

Le titrage doit être effectué aussi rapidement après la distillation par une solution d'acide sulfurique 0,1 N jusqu'à persistance du point de virage. Un essai à blanc doit être inclus dans chaque série de dosage.

Expression des résultats

La teneur en azote total exprime en gramme d'azote pour 100 g d'échantillon est donné. Le résultat de la détermination est exprimé en protéine après multiplication de la teneur en azote total par un coefficient approprié correspondant à la position du produit (Équation 4).

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante:

$$M_N(\%) = \frac{0,0014 * V_{as}}{m} * 100 \quad \text{Équation 3}$$

Où :

M_N : Teneur en azote total dans la spiruline;

M_p : Teneur en protéine de la spiruline;

m: La masse de la prise d'essai(g);

V_{as} : Volume d'acide sulfurique (0,1N) utilisé pour la neutralisation de l'ammoniac.

La teneur en protéines (M_p) est déterminée par la formule suivante par l'Équation 4.

$$M_p(\%) = 6,25 * N(\%) \quad \text{Équation 4}$$



Figure 19: Photographie d'un distillateur d'azote (photographie originale).

2.9.1.5. La teneur en cendres

La teneur en cendres correspond conventionnellement à la masse du résidu d'incinération de la substance dans les conditions déterminées ci-après (**Arrêté du 8 septembre 1977**).

Principe

Incinération de la matière sèche à $550 \text{ °C} \pm 25 \text{ °C}$ dans un lent courant d'air et pèse du résidu obtenu.

Mode opératoire

Porter au four à moufle (Figure 20) le creuset, plus la prise d'essai d'environ 2g de l'échantillon, chauffer progressivement durant 1h30mn à 2h30mn à 550 °C , afin d'obtenir une carbonisation sans inflammation de la masse.

L'incinération doit être poursuivie s'il y'a lieu, jusqu'à combustion complète du carbone formé (résidu blanc ou gris clair) placer le creuset dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir à la température ambiante. Peser à 0,1 mg près.

Expression des résultats

Les cendres de l'échantillon, exprimées en pourcentage en masse calculée selon la relation suivante (Équation 5).

$$M_C(\%) : = \frac{m_{c2} - m_{c0}}{m_{c1} - m_{c0}} * 100 * \frac{100}{100 - H} \quad \text{Équation 5}$$

Où :

M_C (%): Teneur en cendres (% massique)
 m_{c0} : la masse du creuset (g) ;
 m_{c1} : la masse du creuset+ la prise d'essai(g) ;
 m_{c2} : la masse du creuset+ la prise d'essai sèche(g) ;
H: la teneur en eau de la masse de l'échantillon (%).



Figure 20: Photographie d'un four à moufle (photographie originale).

2.9.1.6. Teneur en lipides

Principe et mode opératoire

La détermination des matières grasses est faite selon la méthode d'extraction par le SOXHLET (Figure 21) en utilisant l'hexane comme solvant (NA 7401, 2008) .

50 g d'échantillon sont placées dans le SOXHLET et y introduire 500 ml d' hexane dans le ballon, régler la température à 60°C. Par la suite , chasser la majeure partie du solvant à l'aide de l'évaporateur rotatif (Figure 22) pour éviter l'ébullition de l'huile qui à la longue pourrait modifier les indices d'acidité. Le ballon contenant les lipides est placé à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min.



Figure 21 : Photographie d'un dispositif de SOXHLET (photographie originale).



Figure 22 : Photographie d'un rotavapeur (photographie originale).

Expression des résultats

Le poids des lipides est obtenu par la différence entre le poids final et le poids initial du ballon. Les résultats sont donnés par la formule suivante (Équation 6).

$$M_G(\%) = \frac{(m_A - m_B)}{P \cdot \frac{M_S}{100}} * 100 \quad \text{Équation 6}$$

Où

- M_G : La teneur en matière grasse ;
- m_A : Poids du ballon + extrait (g) ;
- m_B : Poids du ballon vide (g) ;
- P : Poids de la prise d'essai (g) ;
- M_S : Matière sèche (%).

2.9.1.7. Teneur en glucides

La méthode utilisée pour déterminer le taux des glucides est inspirée de celle de la réaction acide sulfurique + anthrone adaptée à la biomasse algale (**Miron, 2003**).

Principe et mode opératoire

A 100 mg de biomasse sont ajoutés 8 ml d'acide perchlorique agité fortement et laissé pour hydrolyse pendant 12 h.

Cinq (5) ml du réactif à l'anthrone fraîchement préparé sont ajoutés à 1 ml du filtrat précédemment obtenu puis chauffés à 100°C pendant 12 minutes, une couleur verte se développe en raison de la formation d'un complexe glucose – anthrone, auquel on détermine la densité optique à 630 nm après refroidissement du mélange par spectrophotométrie (UV-visible) (Figure 23).



Figure 23 : Photographie d'un spectrophotomètre (photographie originale).

Le blanc étant 5 ml du réactif additionné à 1 ml d'eau distillée. Un curve étalon est réalisé en préparant des concentrations connues de glucose dissous dans de l'eau distillée.

2.9.1.8. Teneur en métaux lourds

La spiruline absorbe très facilement les métaux lourds présents dans le milieu de culture. Certains sont toxiques pour l'homme (mercure, plomb, cadmium). Une analyse de la poudre de spiruline est effectuée en vue de dosage des métaux lourds selon la méthode décrite par la pharmacopée européenne (**Pharmacopée Européenne, 2009**).

Mode Opérateur

Solution à examiner

Dans un creuset de platine, introduisez la prise d'essai prescrite (au maximum 2 g de substance à examiner) et 4 ml de solution de sulfate de magnésium à 250 g/l dans l'acide sulfurique dilué.

Chauffez ensuite progressivement jusqu'à carbonisation, puis obtention de cendres pratiquement blanches ou au plus grisâtres, la température ne dépassant pas 800 °C et laissez refroidir.

Reprenez le résidu à 2 reprises par 5 ml d'acide chlorhydrique dilué.

Ajoutez 0,1 ml de solution de phénolphtaléine, puis de l'ammoniaque concentrée jusqu'à coloration rose.

Refroidissez, ajoutez de l'acide acétique glacial jusqu'à décoloration, puis 0,5 ml en excès. Si nécessaire, filtrez et lavez le filtre. Complétez à 20 ml avec de l'eau.

Solution témoin.

Procédez comme il est décrit pour la solution à examiner, en utilisant le volume prescrit de solution à 10 ppm de plomb (Pb au lieu de la substance à examiner). Prélevez 10 ml des 20 ml obtenus et ajoutez 2 ml de solution à examiner.

Solution de contrôle.

Procédez comme il est décrit pour la solution à examiner, en ajoutant à la substance à examiner le volume de solution à 10 ppm de plomb (Pb) prescrit pour la solution témoin. Prélevez 10 ml des 20 ml obtenus et ajoutez 2 ml de solution à examiner.

Solution à blanc.

Un mélange de 10 ml d'eau et de 2 ml de solution à examiner. A 12 ml de chaque solution, ajoutez 2 ml de solution tampon pH 3,5. Mélangez et ajoutez à 1,2 ml de réactif au thioacétamide puis mélangez immédiatement. Examinez les solutions après 2 min.

Expression des résultats

L'essai n'est valable que si la solution témoin montre une légère coloration brune comparée à la solution à blanc et si la solution de contrôle est au moins aussi intense que la solution témoin.

2.9.2. Extraction des pigments hydrosolubles

L'extraction des différents pigments de la spiruline a été réalisée selon la méthode décrite par Ruiz (**Ruiz, 2005**).

2.9.2.1. Séparation des pigments par CCM

La technique adaptée pour la séparation des différents pigments de spiruline par la chromatographie couche mince est celle rapportée par Wilmotte (**Wilmotte, 2007**)

- L'éluant utilisé est composé de : Solvant (85% éther de pétrole, 10% acétone, 5 % isopropanol).
- Tampon (pour 1 litre : 8 g NaCl, 0,2 g KH₂PO₄, 1,15 g Na₂HPO₄.2H₂O, 0,2 g KCl, pH 7,2).

2.9.2.2. Caractérisation spectrale des pigments

Pour ce faire, des dilutions sont réalisées si nécessaire de chaque échantillon avec l'éthanol pour ne pas avoir des absorbances supérieures à 0,8. Ensuite, l'absorbance entre 400 et 750nm pour l'enregistrement des spectres obtenus, est mesurée. Ainsi, la longueur d'onde des maxima d'absorption des différents pigments isolés, est précisée.

2.9.2.2.1. Quantification de la chlorophylle

Principe et mode opératoire

La quantité des chlorophylles est mesurée par spectrophotométrie, 5 mg de poids sec de micro algue sont centrifugés (800 x g pendant 2 min) puis mélangés à 8 ml d'acétone 90% (volumique) pour extraire tout les pigments (**Hansmann, 1973**).

La suspension est agitée vigoureusement puis mise à l'obscurité à 4°C pendant 48 h. Un surnageant est obtenu après centrifugation (800 tr pendant 5 min). La densité optique de ce dernier est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) (Figure 20) à 665, 645 et 630 nm.

Expression des résultats

La quantité des chlorophylles est calculée selon les équations suivantes :

$$M_{\text{Cha}} = 11,6 * DO_{665} - 1,31 * DO_{645} - 0,14 * DO_{630} \quad \text{Équation 7}$$

$$M_{\text{Chb}} = 20,7 * DO_{665} - 4,34 * DO_{645} - 4,42 * DO_{630} \quad \text{Équation 8}$$

$$M_{\text{Chc}} = 55,0 * DO_{665} - 6,64 * DO_{645} - 16,3 * DO_{630} \quad \text{Équation 9}$$

M_{Cha} , M_{Chb} et M_{Chc} : Concentrations des chlorophylles a, b et c (mg/l) ;

DO_{665} , DO_{645} et DO_{630} : La densité optique (DO) mesurée à la longueur d'onde 615, 645 et 652 nm respectivement (m^{-1}).

2.9.2.2.2. Dosage colorimétrique de la phycocyanine

La teneur en phycocyanine a été déterminée par colorimétrie en mesurant l'absorbance DO à 615 nm et DO à 652 nm (**Jourdan, 2012**).

Principe et mode opératoire

Soit C % la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4 % (tremper 40 mg de spiruline dans 10 ml d'eau distillé). Laisser décanter et prélever la solution bleue, la centrifuger si l'on dispose d'une centrifugeuse de laboratoire. Prélever la solution centrifugée ou bien décantée: environ 0,5 à 1 ml. Diluer ce prélèvement d'un facteur de 100 environ avec de l'eau. Soit DIL ce facteur de dilution, en volume. Mesurer au colorimètre ou spectrophotomètre (cuve à trajet optique 11 mm) la densité optique (DO) à 615 nanomètre (nm) de longueur d'onde, DO_{615} , et à 652 nm, DO_{652} (**Jourdan, 2012**).

Expression des résultats

Le Taux de phycocyanine (% en poids) est déterminé selon la formule (Équation 10):

$$M_{\text{ph}} = 1,873 * (DO_{615} - 0,474 * DO_{652}) * \frac{DIL}{C} \quad \text{Équation 10}$$

M_{ph} : Concentration initiale en phycocyanine(%);

DIL : Facteur de dilution ;

DO_{615} , DO_{652} : La densité optique (DO) mesurée à la longueur d'onde 615, et 652 nm respectivement (m^{-1}) ;

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

2.9.2.2.3. Dosage colorimétrique des caroténoïdes

La concentration en caroténoïdes a été déterminée par colorimétrie, en mesurant la densité optique à 450 (**Jourdan, 2012**).

Principe et mode opératoire

Ajouter 25 % d'acétone ou, à défaut, d'alcool à 90°, à une solution de spiruline dans l'eau distillé, et la maintenir 24 heures au réfrigérateur. Soit C la concentration en spiruline dans cette suspension. Décanter, et si possible centrifuger, et prélever 0,5 ml de la solution. Diluer à l'acétone ou à l'alcool.

Expression des résultats

Soit la concentration de spiruline sèche mise à tremper dans l'eau autour de 4%. Et le poids des caroténoïdes est déterminé par la formule (Équation 11).

$$M_{car} = 0,357 * DO_{650} * \frac{DIL}{C} \quad \text{Équation 11}$$

Ou :

M_{car} : Concentration des caroténoïdes(%);

DO_{650} : La densité optique mesurée à 450 nm ;

DIL : Facteur de dilution en volume ;

C : La concentration en spiruline dans cette suspension autour de 4%.

2.9.3. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologique, effectuées sur les échantillons de spiruline, comprimés, gélules visait à contrôler la qualité hygiénique de ces produits : il s'agissait donc d'un contrôle de matière première et de produits finis.

2.9.3.1. Préparation des dilutions décimales

La spiruline destiné aux analyses microbiologiques dans notre étude est sous forme de poudre donc n'est pas directement pipetables, de ce fait, elle nécessite une fluidisation représentée par ce qu'on appelle : la suspension mère. Cette suspension doit être préparée dans des conditions d'asepsie rigoureuse en manipulant sous hotte à flux laminaire, on a procédé à leurs préparations selon la norme (**NF V 08-301, 1983**).

Pour la préparation des solution, pesée aseptiquement 25 g de spiruline dans un récipient stérile et taré ; ajouter ensuite 225 ml d'eau physiologique pour obtenir la dilution 10^{-1} , puis homogénéiser par agitation manuelle.

Prélever 1 ml de la dilution 10^{-1} précédente l'aide d'une nouvelle pipette pasteur stérile, et l'introduire dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique. Le tube est agité manuellement

pour rendre la dilution homogène et on obtient une dilution de 1/100ème ou 10^{-2} . On procède de la même manière pour les autres dilutions.

Toutes les manipulations s'effectuent avec un maximum de précision et de manière aseptique et chaque pipete n'est utilisé qu'une seule fois.

Pour le produit fini les dilutions sont faites à partir d'une solution mère préparée suivant la méthode suivante :

On met 1g de produit dans 10 mL d'eau physiologique et à partir de cette solution on prépare les autres dilutions jusqu'à 10^{-3} .

2.9.3.2. Recherche et dénombrement de la flore microbienne

Les analyses microbiologiques reposent sur la recherche et le dénombrement des germes les plus significatifs de l'état hygiénique du produit, nous avons effectué :

- La recherche et le dénombrement de la flore mésophile totale qui est indice de l'état général de la qualité du produit ;
- La recherche et le dénombrement des groupes de germes indicateurs de contamination fécale:
 - Les coliformes;
 - Les *Clostridium* sulfite-réducteurs;
- La recherche des germes pathogènes:
 - Les salmonelles;
 - Les staphylocoques (*Staphylococcus aureus*);
- La recherche des levures et moisissures;
- La recherche des streptocoques fécaux.

2.9.3.2.1. Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale

C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à l'air libre avec une croissance optimale située entre 25 et 45°C. Cette flore est un indicateur de la qualité générale du produit à analyser (**Guiraud, 1998**).

Le dénombrement de ces germes reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans un contrôle. Un aliment dont la flore totale est en dessus des normes présentera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation.

Principe

Le milieu utilisé est une gélose nutritive de type TGEA exempte d'inhibiteur et d'indicateur, après incubation cette flore apparaît sous forme de colonies lenticulaires (**Guiraud et al., 1980**).

Mode opératoire

À partir des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-3} mettre aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétrie vide et stérile. Compléter ensuite avec environ 15 ml de gélose TGEA, puis faire des mouvements circulaires en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger

avec la gélose, laisser solidifié sur la paillasse, les boîtes ensuite sont incubés à 30°C pendant 72 heures (**Bourgeois et al., 1991**).

Lecture

Retenir les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 à 300. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml, elles sont données par l'équation 13:

$$N_g = \frac{N_c}{Dil * v} \quad \text{Équation 12}$$

N_g : Nombre de germes par ml de produit ;

N_c : Nombre de colonies ;

v : Volume de dilution ;

Dil : Facteur de dilution ou la dilution considérée.

2.9.3.2.2. Recherche et dénombrement de coliformes totaux

Ils appartiennent à la famille des enterobacteriaceae ; ce sont des bacilles Gram-, a sporulés, oxydase-, aéro-anaérobies facultatifs, et capables de se développer en sont vivantes naturellement dans l'intestin. La présence de ces germes dans le produit à analyser traduit une contamination fécale récente (**Guiraud, 1998**).

La recherche et le dénombrement des coliformes est faite en milieu liquide par la technique du NPP (nombre le plus probable) (annexe2).

Mode opératoire

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir (ISO 4832, 2006) :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des coliformes totaux ;
- Le test de confirmation : encore appelé test de mac kenzie et réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Test de présomption

On prend 3 séries de 3 tubes contenant 10 ml de bouillon lactose bilié au vert brillant (VBL) avec cloche de Durham. On porte successivement dans chacun des trois tubes de la première série 1 ml de la dilution de 10^{-1} , puis dans chacun des trois tubes de la deuxième série 1 ml de la dilution 10^{-2} , et dans chacun des trois tubes de la troisième série 1 ml de la dilution 10^{-3} .

Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois.

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) ;
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune.

Test de confirmation

A partir de chaque tube de milieu présomptif ayant donné un résultat positif, on repique 2 à 3 gouttes dans le milieu indole mannitol (Schubert) muni d'une cloche de Durham. Les tubes sont incubés à 44 °C pendant 24 heures.

Les tubes positifs sont ceux où apparaît un dégagement de gaz dans la cloche de Durham et un anneau rouge en surface, témoin de la production de l'indole mannitol par *Escherichia coli* après addition de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

Expression des résultats

Après lecture, on note le nombre de tubes donnant un test gaz positif et un test indole positif pour chaque série de tubes ensemencés.

A partir de ce chiffre ou code obtenu on procède à la lecture sur la table de Mac Grady (table NPP)(annexe 2) pour la détermination du nombre le plus probable de coliformes fécaux et éventuellement d'*Escherichia coli*.

2.9.3.2.3. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus sont les plus régulières pathogènes, sont anaérobies facultatifs (Bourgeois et Leveau, 1991), des catalases positives, coagulases positives, immobiles et non sporules, capables de produire une ou des entérotoxines ; la bactérie est considérée comme un témoin d'hygiène (Larpen, 1997).

Principe

L'enrichissement sur milieu Giolitti Cantonii (GC) permet une révérification idéale des souches stressées par la réduction de tellurite de potassium en tellure responsable de la coloration noire, de plus le tellurite de potassium a un effet inhibiteur sur les autres germes.

L'isolement sur le milieu Chapman sélectionne les *Staphylococcus aureus*. Sa teneur élevée en chlorure de sodium, permet l'inhibition des autres germes. La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage de phénol au jaune (ISO 6888, 1983).

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 mL par dilution dans un tube à vis stérile. Ajouter par la suite environ 15 mL du milieu d'enrichissement GC, auquel est ajouté du tellurite de potassium homogénéisé le milieu et l'inoculum. Incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Seront considérées positives, les tubes ayant virés au noir.

Ces tubes feront l'objet d'une confirmation par l'isolement sur gélose Chapman, coulée en boîte de Pétri séchée.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Puis repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, de couleur jaune.

2.9.3.2.4. Recherche et dénombrement des salmonelles

Les salmonelles appartiennent à la famille des enterobacteriaceae, ce sont des bacilles, anaérobies facultatives, réduisent les nitrates, mobiles grâce à une ciliature peritriche, oxydase (-), catalase (+). Leur recherche et leur identification permettent de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non. Elles comprennent plus de 1500 serotype, ces dernières se manifestent par des diarrhées, de la fièvre et des vomissements (**Corrier, 1991**).

Principe

Les salmonelles sont des bactéries difficiles à isoler, vu leur nombre, pour cela leur recherche nécessite le passage par différentes étapes, d'abord un pré-enrichissement puis un enrichissement sur le milieu sélectif, et à fin isolement sur milieu Hektoen (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Mode opératoire

La recherche de salmonella comporte plusieurs étapes qui sont les suivantes.

Pré-enrichissement

Il consiste à préparer une suspension mère en prélevant 25g de produit à analyser que l'on introduit dans 225 ml dans l'eau physiologique. Cette dernière sera incubée à 37°C pendant 18 à 20 heures.

Enrichissement primaire

On ensemence 10mL du milieu de pré-enrichissement dans 100mL du milieu liquide SFB D/C (+ additif SFB) qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le but de cette étape consiste à éliminer au maximum les autres germes et à garder que ceux apparentant au genre salmonella, la présence des salmonelles se traduit par un virage de la solution au rouge brique.

Enrichissement secondaire et isolement sur Héktoén

Le but de cette étape est l'isolement du milieu d'enrichissement primaire dans une gélose Héktoén d'une part, et d'autre part un second enrichissement qui consiste à ensemencer 0,5 ml du milieu d'enrichissement primaire dans un bouillon sélénite cystine contenue dans un tube de 10 ml et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Isolement sélectif

A partir de milieu d'enrichissement secondaire, un second isolement est réalisé sur gélose Héktoén et une lecture de la boîte incubée la veille. La boîteensemencée est incubée à 37°C pendant 24 heures.

Lecture des résultats

La lecture consiste à dénombrer les colonies caractéristiques 2 à 4 mm de diamètre, lisse et de couleur bleu verdâtre avec ou sans centre noir. Les résultats sont exprimés par la présence ou l'absence dans les échantillons à analyser.

2.9.3.2.5. Recherche et dénombrement de *Clostridium* Sulfite réducteur

Ces bactéries appartiennent à la famille des bacillaceae, ce sont des bacilles Gram positifs sporulés, et anaérobies stricts. Elles réduisent le nitrate en nitrite et fermentent le lactose avec production de gaz. Elles peuvent contaminer les produits alimentaires dans des conditions d'anaérobiose ainsi que les conserves où peuvent facilement proliférer grâce à leurs spores, c'est les seuls êtres vivants après pasteurisation (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

L'intérêt de la recherche de ces germes en bactériologie alimentaire repose d'une part, sur leurs capacités à produire les toxines, d'autre part sur leurs capacités à sporuler donc à survivre aux processus de conservation des aliments. La recherche vise à confirmer la présence des spores, après destruction des formes végétatives par chauffage des dilutions dans un bain Marie à 80°C pendant 10 mn.

Deux espèces sont responsables de toxi-infections alimentaires:

- *Clostridium perfringens*, toxigène et pathogène, responsable de septicémies chez l'Homme et les animaux ;
- *Clostridium botulinum*, responsable du botulisme chez l'Homme.

Principe

Le milieu utilisé est la gélose viande-foie (VF), additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer, l'action des germes sulfite-réducteurs conduit à la réduction du sulfite de sodium en présence d'alun de fer en sulfure, donnant la couleur noire aux colonies (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Mode opératoire

Introduire 5 ml de la dilution 10^{-1} dans deux tubes vides et stériles et également 1 ml de cette dilution qui va être complétée avec 4 ml d'eau physiologique stérile.

Ces trois tubes sont portés au bain-marie 80°C pendant 10 minutes, afin d'éliminer la forme végétative et de ne laisser que la forme sporulante. Les tubes sont aussitôt refroidis l'eau du robinet avant de faire couler aseptiquement la gélose viande-foie fondue et refroidie à 45°C additionnée de sulfite de sodium (5 ml) et d'alun de fer 2 ml, les tubes sont nouveau refroidis l'air ambiant et incubés à 37°C pendant 72 h.

Lecture

Les colonies apparaissent entourées d'un halo noir. Les résultats sont exprimés par nombre de spores par ml de produit.

2.9.3.2.6. Recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

Les streptocoques fécaux sont des bactéries des matières fécales. Ils appartiennent essentiellement au genre enterococcus, sont des cocci gram+, micro-aérophiles caractérisés par la voie homo-fermentaire (**Guiraud, 1998**). Leur présence dans les produits est considérée comme indice de contamination fécale.

Principe

Le dénombrement se fait en milieu liquide sélectif. Le nombre de streptocoques étant en général peu élevé ; on utilise dans un premier temps un milieu d'enrichissement relativement sélectif, le milieu de Roth (acide de sodium comme agent sélectif) pour réaliser le test présomptif. On réalise ensuite le test confirmatif en utilisant le milieu listky qui contient de l'acide de sodium et le cristal violet comme agent sélectif (**Guiraud, 1998**).

Deux tests sont préconisés ;

Test de présomption

La recherche se fait sur milieu Roth (D/C, S/C) dans des tubes à essai à raison de 10 ml dans chaque tube.

On ensemence les tubes à essai dans le milieu Roth comme suit :

- 3 tubes de Roth D/C sont inoculés avec 10 ml de l'échantillon à analyser ;
- 3 tubes de Roth D/C sont inoculés avec 1 ml de l'échantillon à analyser ;
- 3 tubes de Roth D/C sont inoculés avec 0,1 ml de l'échantillon à analyser.

L'incubation des tubes se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture

Le test de présomption est positif quant il y a apparition d'un trouble microbien dans le milieu Roth.

Test de confirmation

Si le test de présomption est positif, un repiquage sur milieu Litsky est effectué, l'incubation des tubes est réalisée à 37°C pendant 24 h. Le test positif se réduit par l'apparition d'un trouble microbien et d'une pastille violette au fond du tube.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois, un trouble microbien, et ou une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes. La lecture finale s'effectue également selon ses prescriptions de la table du NPP.

2.9.3.2.7. Recherche des levures et moisissures

Ces champignons sont capables de se développer en milieu acide et au froid. Ils provoquent des défauts de fabrication qui se traduisent par des altérations nutritionnelles et organoleptiques des produits (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Leur croissance est moins rapide que celle des bactéries, mais très peu exigeante en éléments nutritifs (**NF V 08-059, 2002**). Ils provoquent des défauts de fabrication qui se traduisent par des altérations nutritionnelles et organoleptiques des produits (**Bourgeois et Leveau, 1991**).

Principe

Le milieu utilisé doit inhiber la croissance de toutes les bactéries, il doit renfermer donc une substance inhibitrice de leur développement (antibiotique) la substance choisie est donc l'oxytétracycline pour OGA (**Guiraud, 1998**).

Mode opératoire

À partir de la dilution décimale 10^{-1} , ensemercer aseptiquement 0.1ml dans une boîte de pétrie contenant de la gélose OGA. Étaler cette suspension à l'aide d'un râteau stérile, Puis incuber à 25°C pendant 3 à 5 jours.

Lecture

Les colonies de levures ressemblent à celles des bactéries mais plus grandes, elles sont brillantes, rondes, bombées et de couleurs différentes, alors que celles des moisissures, ont un aspect velouté, de couleur blanche ou pigmentée de tailles plus grandes que les précédentes. Les résultats sont exprimés en nombre de germe par ml ou gramme de produit.

2.10. Obtention et caractérisation des comprimés (spiruline)

2.10.1. Formulations des comprimés

Des comprimés de diamètre de 10 mm et un poids de 340 mg, ont été préparés par compression directe (Figure 24) à l'aide d'une comprimeuse manuelle alternative (Figure 25).

Selon l'étude muni Benahmed Djilali et col (**Benahmed Djilali et al., 2011**) sur la force optimale de compression en fonction des déformations des comprimés et la limite de friabilité appropriée, nous avons appliqué des pressions manuelle qui implique un assemblage stable à faible friabilité.

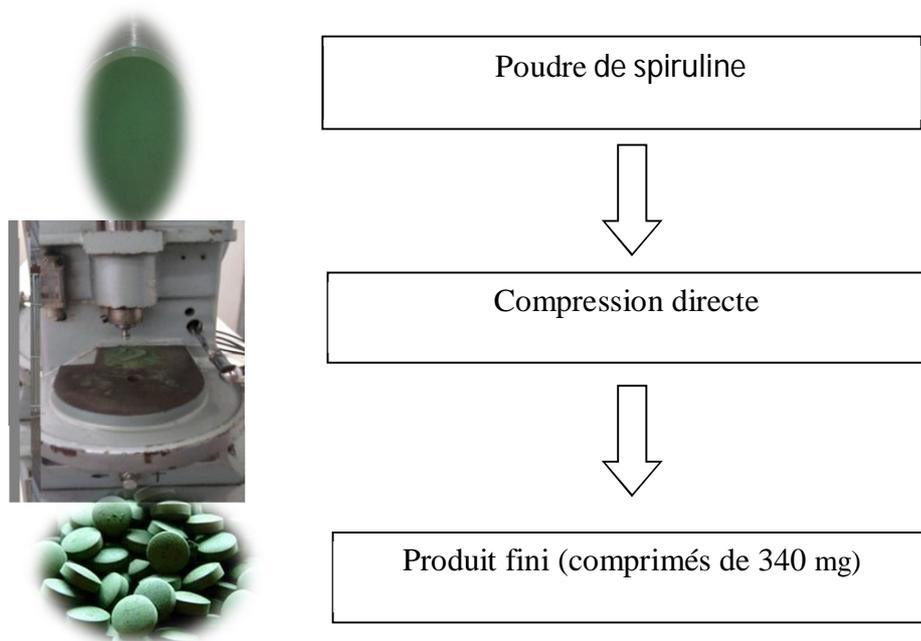


Figure 24 : Diagramme de fabrication des comprimés par compression directe

Les phénomènes intervenant en cours de la compression et les relier aux propriétés morphologiques et physico-chimiques d'usage : résistance au broyage (friabilité), résistance à la rupture (dureté), dissolution (libération des principes actifs) sont identifiés.

Ensuite un modèle qui décrit le phénomène de transfert dans les milieux de dissolution, sera exposé en section (2.10.2.6).

Les comprimés ainsi obtenus présentent des résistances mécaniques suffisantes pour pouvoir être manipulés sans s'effriter, ni se briser.



Figure 25: Photo de la compresseuse manuelle alternative (photographie originale)

2.10.2. Certaines caractéristiques physico-chimiques des comprimés

La préparation des comprimés et la détermination de leurs propriétés physico-chimiques, y compris l'étude in vitro de dissolution (2.10.2.5), de friabilité, de dureté, de temps de désintégration en eau distillée à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, de dissolution ont été effectuées dans les trois solutions (eau distillée, HCl 0,1N et la solution phosphatée saline tamponnée à pH 6,8).

2.10.2.1. La friabilité (perte en masse des comprimés)

Elle est déterminée au moyen d'un Friabilimètre (Figure 26). On fait tourner 10 comprimés pendant 4 mn à une vitesse de 25 r.p.m puis on répète encore une autre fois la pesée (**Pharmacopée Européenne, 1997**).

La friabilité (taux d'effritement $< 1\%$) est exprimée par l'équation (Équation 14):

$$F = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100 \quad \text{Équation 13}$$

F: La friabilité ou perte en masse (%);

P_0 : Poids initial des comprimés (g);

P_1 : Poids final des comprimés (g).



Figure 26: Photo d'un Friabilimètre (photographie originale).

2.10.2.2. La dureté (résistance à la rupture)

La dureté est une caractéristique mécanique des comprimés. Cette grandeur traduit la cohésion des comprimés donc sa manipulabilité. Ce test consiste à déterminer la force nécessaire pour provoquer la rupture des comprimés par écrasement. Elle est mesurée sur 10 comprimés de chaque formulation à l'aide d'un Duromètre (Figure 27) (**Pharmacopée Européenne, 1997**).



Figure 27: Photo du Duromètre (photographie originale).

2.10.2.3. Le temps de désintégration (désagrégation)

Il est appelé aussi temps de délitement. Il a été évalué au moyen d'un désintégrateur de contrôle (Figure 28) sur les comprimés obtenus en utilisant l'eau distillée chauffée à $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$

comme milieu de dissolution. La désagrégation est considérée comme atteinte lorsque les comprimés sont complètement désagrégés (**Pharmacopée Européenne, 1997**).

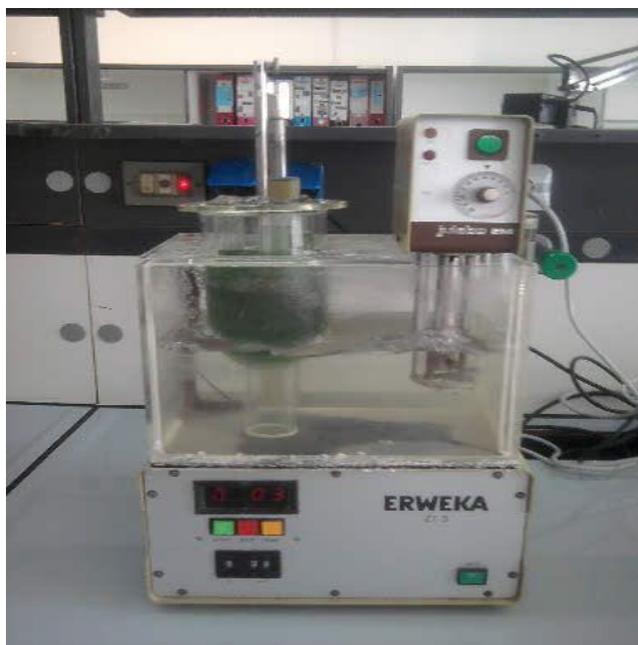


Figure 28: Photo du désintégrateur (photographie originale).

2.10.2.4. Essai de stabilité

Cet essai a été fait par la vérification des caractéristiques qualitatives des comprimés. L'étuvage a été réalisé dans le laboratoire de SAIDAL selon la pharmacopée européenne (Pharmacopée Européenne, 2009). Les comprimés ont été incubés à $22\pm 03^{\circ}\text{C}$ et $40\pm 02^{\circ}\text{C}$ pendant 40 jours (de 17 avril au 30 Mai 2013). Tous les analyses cités dans la section (2.9.3) ont été Appliqués, ainsi la masse des comprimés a été pesée.

2.10.2.5. Dissolution de phycocyanine

En se basant sur ses propriétés pharmacologiques, la phycocyanine, est étudiée comme substance active, mérite une attention du point de vue des phénomènes de libération à partir des comprimés immergés dans divers milieux liquides (eau distillée, HCl 0,1 N et la solution tampon de phosphate pH 6,8).

Le test de dissolution consiste à placer chaque comprimé dans 500 ml du liquide de dissolution dans l'appareil de dissolution (Figure 29) muni des palettes fonctionnant à 50 r.p.m et la température du milieu est réglée à $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (**Sriamornsak, 2007**).

Le contenu de phycocyanine est calculé à différents intervalles de temps en utilisant la méthode colorimétrique décrite par Jourdan (**Jourdan, 2012**) et qui consiste à mesurer l'absorbance à 615 et 652 nm.

La concentration en phycocyanine était obtenue en accordant l'équation 15 :

$$M_{ph_t} = 1,873 * (DO_{615} - 0,474 * DO_{652}) * \frac{DIL}{C} \quad \text{Équation 14}$$

DIL : Facteur de dilution ;

M_{ph} : Concentration initiale en phycocyanine(%);

DO_{615} , DO_{652} : La densité optique (DO) mesurée à la longueur d'onde 615, et 652 nm respectivement (m^{-1});

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

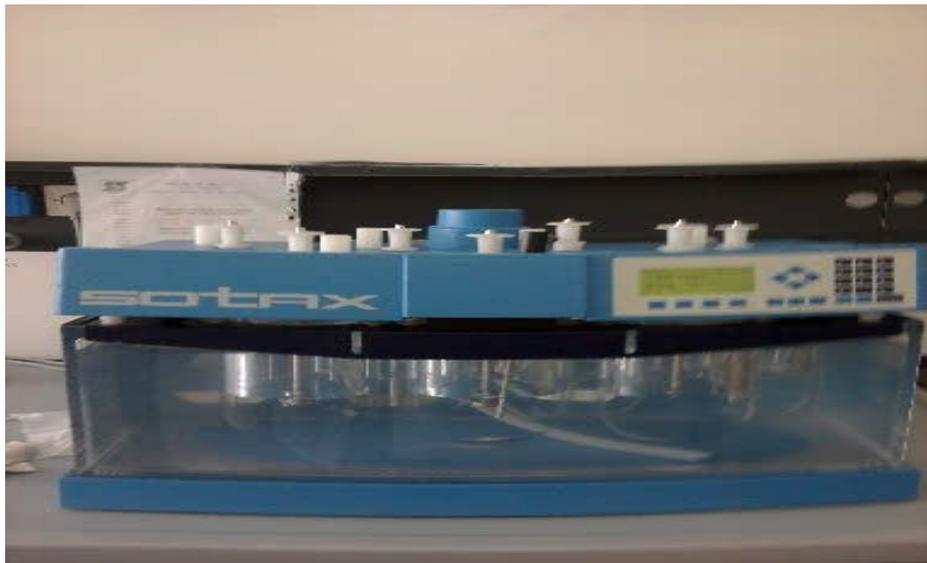


Figure 29: Photo de l'appareillage de dissolution (photographie originale).

Les résultats obtenues, pourcentage de phycocyanine dissous par rapport à la quantité initiale dans les comprimés sont représentés en fonction de temps sous forme de graphe.

2.10.2.6. L'étude de cinétique de libération de la phycocyanine

La phycocyanine (pigments bleu-vert de la spiruline) possède plusieurs propriétés pharmacologiques (antibactérienne, antioxydante et surtout anti-inflammatoire). C'est la raison pour laquelle nous avons jugé utile de le considérer comme principe actif à des fins de caractérisation de nos comprimés.

L'étude de la dissolution des comprimés a pour but de quantifier le taux de libération de principe actif (phycocyanine) dans les trois milieux de dissolution cités dans le test précédant. Le mécanisme de transfert de phycocyanine dans le milieu de dissolution a été déterminée selon le modèle Korsmeyer Peppas (**Korsmeyer et al., 1983**) (Équation 16) ; aussi appelé loi puissance, permet de décrire la libération d'un principe actif sur les soixante premiers pourcents(60%) pour des systèmes de différentes géométries (plan, cylindre et sphère) (**Siepmann et et al., 2001**) .

Il décrit de façon générale la relation entre la quantité cumulée libérée en fonction du temps :

$$\frac{M_{ph_t}}{M_{ph_0}} = k * t^n \quad \text{Équation 15}$$

M_{ph_t} : La quantité de phycocyanine libérée au temps t ;

M_{ph_0} : La quantité totale de phycocyanine dans le véhicule ;

k : Constante caractérisant en même temps la structure et la géométrie des comprimés;

n : paramètre « exposant de la diffusion » et prendra différentes valeurs selon le type de diffusion en présence et selon la géométrie du système ;

Pour le cas des comprimés cylindriques (**Siepmann et al., 2001**):

$n \leq 0,45$: le mécanisme de diffusion est fickian ;

$0,45 < n < 0,89$ le mécanisme de diffusion est non-Fickian ;

$n > 0,89$ Cinétique d'ordre zéro.

L'équation 18 a été appliquée aux données expérimentales et les constantes sont étudiées graphiquement après une simple transformation (Équation 17) :

$$\log\left(\frac{M_{ph_t}}{M_{ph_0}}\right) = \log(k) + n * \log(t) \quad \text{Équation 16}$$

2.11. Mise en gélule

La mise en gélule se fait de façon manuelle, par introduction de 400 mg de poudre de spiruline dans des gélules à base de gélatine végétale sous la haute, les pesés sont faite avec précision toute en respectant les conditions d'hygiène et de sécurité (Figure 30).

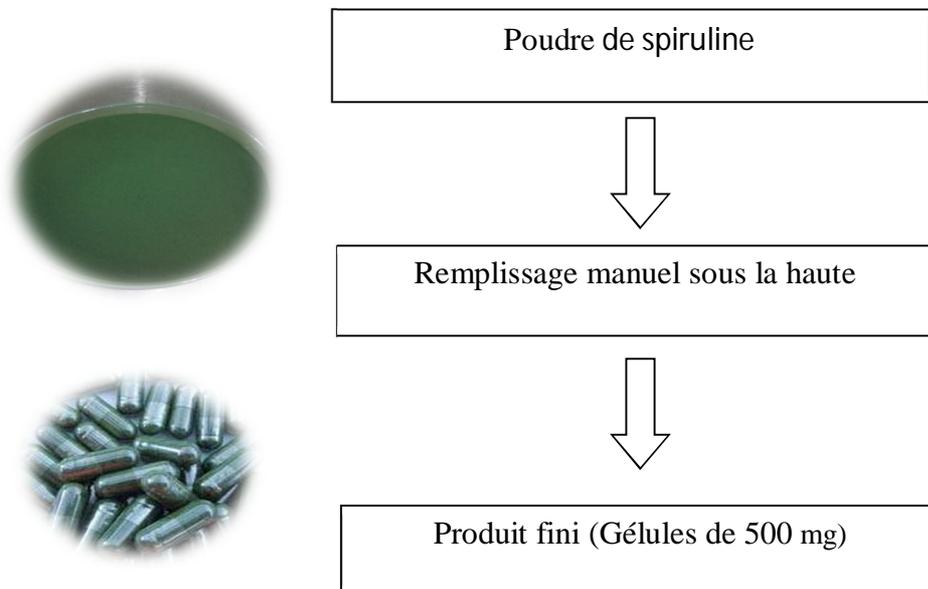


Figure 30 : Digramme de mise en gélules

2.11.1. Déterminations de l'uniformité de masse

L'uniformité de masse est appréciée par la mesure de la masse moyenne du contenu de 20 gélules. La masse moyenne de 20 gélules entières a également été déterminée.

Les paramètres statistiques calculés pour comparer les lots sont la moyenne, le coefficient de variation et l'écart type (**Pharmacopée Européenne, 2009**).

2.11.2. Détermination du temps de désagrégation

L'appareil utilisé est décrit par la Pharmacopée Européenne 6^{ème} édition (pharmacopée Européenne, 2009).

Milieu de désagrégation : eau ;

Température : 37°C ;

Nombre de gélules : 4.

2.11.3. Dissolution de phycocyanine

L'étude de la dissolution est la même utilisé pour les comprimés et exposés en section (2.10.2.5), en se basant toujours sur le phycocyanine comme principe actif, et en utilisant les mêmes milieux de dissolution (eau distillée, HCl 0,1 N et la solution tampon de phosphate pH 6,8) et la même appareille de dissolution (Figure 29).

2.12. Essai de stabilité

Cet essai a été fait par la vérification des caractéristiques qualitatives des gélules. L'étuvage a été réalisé dans le laboratoire de SAIDAL selon la pharmacopée européenne (**Pharmacopée Européenne, 2009**). Les gélules ont été incubées à $22\pm 03^{\circ}\text{C}$ et $40\pm 02^{\circ}\text{C}$ pendant 40 jours (de 17 avril au 30 Mai 2013). Une pesé des gélules et des comprimés ainsi un control microbiologique ont été procédés.

La stabilité est évaluée par comparaison des caractéristiques physiques (aspect physique des gélules et des comprimés, temps de désintégration dans l'eau distillée à $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, la perte en masse) des gélules avant et après le stockage sous les différentes conditions de stockage.

CHAPITRE II

RESULTATS ET DISCUSSIONS

2.13. Caractérisation microbiologique des matières premières

Les analyses microbiologiques ont été effectuées sur la son innocuité. Le Tableau 11 résume les résultats de ses analyses.

Tableau 11: Résultats des analyses bactériologiques effectué sur la poudre spiruline.

Germes	Germes/ml de la spiruline		
	Dilution 10 ⁻¹	Dilution 10 ⁻²	Dilution 10 ⁻³
Mésophiles totaux	Abs.	Abs.	Abs.
Coliformes totaux	Abs.	Abs.	Abs.
Coliformes fécaux	Abs.	Abs.	Abs.
Staphylocoques dore	Abs.	Abs.	Abs.
Salmonelles	Abs.	Abs.	Abs.
Streptocoques fécaux	Abs.	Abs.	Abs.
Clostridium sulfito-réducteur	Abs.	Abs.	Abs.
Levures et moisissure	Abs.	Abs.	Abs.

Les différentes analyses n'ont donné à aucune présence des germes, de ce fait la spiruline est d'une bonne qualité bactériologique et acceptable pour être la base d'un complément alimentaire (Figure 31).



Coliformes totaux et fécaux



staphylococcus aureus



Clostridium sulfito-réducteur

Figure 31 : Résultats obtenus après les analyses microbiologiques.

2.14. Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de spiruline

La spiruline qui est une algue bleue est reconnue depuis longtemps par sa richesse en nutriments. En effet, sa teneur en protéines est de l'ordre de 55 % de son poids sec. Ainsi, le (Tableau 12) présente les résultats relatifs à certains paramètres physico-chimiques de la poudre de spiruline étudiée et de la spiruline de référence.

Tableau 12 : Indices physico-chimique de la poudre de spiruline.

Indices physico chimiques	Teneur moyenne	Spiruline Burkinabé (Benahmed Djilali et <i>al.</i> , 2013)
pH à T =22 °C	8,81	6,8
Humidité (%)	8	14,34
Acidité titrable (% d'acide citrique)	17	19,6
Protéine (%)	55	61,3
Taux de cendre (%)	9	8,6
Matière sèche (%)	92	89,29
Glucides (%)	18,45	-
Matière grasse (%)	4	1,61
Energie brute (kcal/g)	3,298	4,670

2.14.1. Le pH

La poudre de spiruline utilisée dans la présente recherche présente un PH dans les normes en effets la valeur 8,81 rentre dans la gamme recommandé par les normes françaises et qui est entre 7 et 9 (**Jourdan, 2012**), une telle valeur peut s'expliqué par un séchage adéquat et un pH de milieu de culture entre 9 et 10.

2.14.2. La teneur en eau

La spiruline possède une teneur en eau dans les normes en effet la valeur de 8 %, est inférieur à celle recommandé par les normes et rapporté par Jourdan (**Jourdan, 2012**).

2.14.3. L'acidité titrable

La spiruline présente une acidité titrable élevée (17%), qu'est une valeur assez élevé, et proche de la valeur publié par Melle Ben Ahmed (**Benahmed Djilali et al., 2013**), ceci peut être lié à sa composition riche en acides organiques (**Elyah, 2003**).

2.14.4. La teneur en cendres

La poudre de spiruline renferme un taux en cendres de l'ordre 9 %, valeur qui est proche à celle rapportée par Jourdan (< 10) (**Jourdan, 2012**), Ce pourcentage est lié fort probablement au pouvoir d'absorption des métaux par cette souche dans les milieux de culture utilisés comme cela est souligné par plusieurs auteurs (**Branger et al., 2003; Chen et al., 2005; Rangsayatorn et al., 2004**).

2.14.5. La teneur en protéines

Une autre particularité de cette micro-algue réside dans sa densité en protéines, Elle contient une teneur de l'ordre de 55 %, Cette teneur est observée inférieure à celle avancée par (**Branger et al., 2003**) et (**Jourdan, 2012**), Aussi, il est à noter que cette concentration protéinique doit être supérieure à 50%.

2.14.6. Teneur en matière grasse

La spiruline utilisée présente une teneur en lipide totaux de 4%, une valeur relativement faible par rapport à d'autres souches de spiruline, ou celle publiée par (**Girardin-Andréani, 2005**), 11 % et en poids et même 14,3 % au maximum (**Babadzhanov et al., 2004**).

2.14.7. Teneur en glucides

En premier lieu une courbe d'étalonnage (concentration en fonction de la DO_{630}) est élaborée (Figure 32), en mesurant la densité optique à 630 pour des solutions de glucose préparées au préalable, avec des concentrations connues.

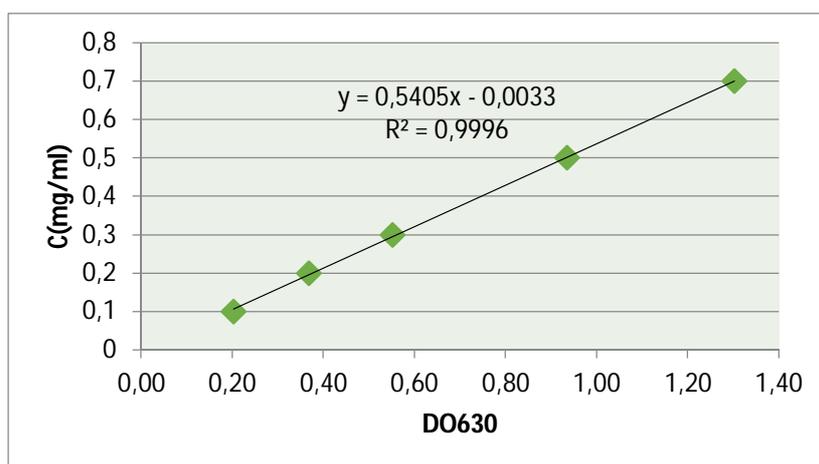


Figure 32 : Concentration en glucose en fonction de la densité optique à 630 nm.

La poudre de spiruline présente une teneur en glucide de l'ordre de 18,45 % de la matière sèche qu'est une valeur très importante, et donne à la spiruline une valeur énergétique considérable.

2.14.8. Teneur en matière sèche

La poudre de spiruline présente une teneur très élevée en matière sèche indiquant sa richesse en substances biologiques dont les minéraux.

2.14.9. La composition minérale

En ce qui concerne la toxicité par les métaux lourds, la spiruline analysée ne présente aucune surdose en métaux lourds (Ni, Cd, Co, Cr et Pb), les teneurs obtenues étant nulles ou conformes aux normes préconisées par les Organismes (**FAO/OMS, 1982**).

2.15. Pigments de la spiruline

L'évolution du profil chromatographique (CCM) en fonction du temps (Figure 33) révèle une séparation nette de quatre composés à différents temps d'élution, L'ordre chronologique d'élution est : les xanthophylles (tache orange)/ la phycocyanine (tache bleu-verte)/ les chlorophylles (tache verte) et les caroténoïdes (tache jaune).

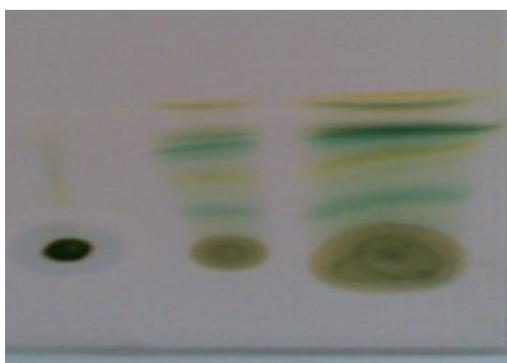


Figure33 : Séparation des pigments hydrosolubles de la spiruline par CCM.

(Éluant (85% éther de pétrole, 10% acétone, 5 % isopropanol).

NB : La détermination des Rf n'a pas eu lieu en raison de la disparition des taches qui est due à une mauvaise révélation de la plaque de CCM.

Nous pouvons déduire que la chromatographie en couche mince est efficace en ce qui a trait au pouvoir de séparation puisqu'elle permet nettement de distinguer les chlorophylles et les caroténoïdes.

L'analyse quantitative des différents extraits montre que la phycocyanine est un pigment majoritaire avec une teneur (1,76 %), valeur proche de celle obtenue par Melle Benahmed Djilali (**Benahmed Djilali et al., 2013**) mais inférieure aux valeurs des littérateurs (>10 selon (**Jourdan, 2012**)).

Tableau 13 : Concentration des pigments de la spiruline.

(g/100 g de spiruline sèche).	Spiruline	Spiruline Burkinabé (Benahmed Djilali et al.,2013)
Phycocyanine	1,76	1,7
Chlorophylle a	0,17	0,59
Chlorophylle b	0,22	0,35
Chlorophylle c	0,63	-
Chlorophylle total	1.02	1.02
Caroténoïde	0,87	0,11

La teneur en chlorophylle totale est estimée à 1,02 g/100gMS, Ces résultats expérimentaux sont en accord avec la littérature qui présume que la phycocyanine est un pigment abondant, Parfois, il est seul présent chez les algues bleues, Toutefois, la quantité de ces pigments varie selon les conditions de culture dont l'intensité lumineuse à laquelle sont exposées les cellules constitue un paramètre important (**Jahn, 1984**), En effet, les algues cultivées sous une lumière verte ajustent leur composition pigmentaire en produisant de la phycoérythrine (**Lüning, 1990**). Egaleme nt, une étude menée par (**Fabregas et al.,1998**) démontre que la concentration en pigments est limitée lorsque le taux d'azote est élevé dans le milieu de culture.

En ce qui concerne la teneur en caroténoïdes trouvée (0,87g/100g MS), elle est supérieure aux valeurs de la littérature, Ceci est probablement dû aux conditions de culture qui restent de toute façon améliorables (**Liang, 1999**).

2.16. Caractéristiques physico-chimiques des comprimés

Nos comprimés obtenus (Figure 34) par compression direct ont une couleur plus foncée avec une surface lisse et brillante.



Figure 34 : Les comprimés de spiruline(Photographie original).

Les résultats des propriétés physico-chimiques des comprimés sont récapitulés dans le Tableau , Les comprimés de la spiruline pèsent au moyen 340 mg, avec un écart-type de l'ordre de $\pm 0,007$ à $\pm 0,02$, ce qui indique une uniformité du poids des comprimés.

Tableau 14 : Quelques propriétés physico-chimique des comprimés.

Poids (mg)	340	
Dureté (KP)	50	>45
Epaisseur (mm)	2	
Diamètre (mm)	10	
Friabilité (%)	0.81	<1
Temps de désintégration à 37 °C (min)	31	

2.16.1. Dureté

La valeur élevée obtenue pour les comprimés, qu'est 50 N représente un avantage en termes de compactage et du transport des comprimés sachant que la dureté requise pour certains comprimés pharmacologiques doit être au moins égal à 45 N (**Pasqualoto, 2007**).

2.16.2. Friabilités

Cependant, la dureté élevée des comprimés est confirmée par la valeur de friabilité qui est plus faible (0,81 %).

Nos comprimés ne présentent aucune désagrégation pendant l'essai de friabilité ce qui indique la possibilité de formuler les comprimés purs de spiruline sans substances liantes.

En outre, la friabilité obtenue, est inférieure (0,81%) à celles des comprimés de paracétamol additionné de gomme et de gélatine en tant que substances liantes (**Okoye, 2009**). D'autres chercheurs ont préparé des comprimés d'édulcorant (lactose+amidon) ayant une friabilité comprise entre 1 et 60% avec un temps de dissolution en dessous de 30 sec (**Lefevre, 2003**).

2.16.3. Essai de désintégration

L'étude de la dissolution des comprimés est généralement précédée par l'essai de désintégration, Ce dernier est adopté pour contrôler la dose des minéraux et des vitamines libérées dans l'eau distillée à 37°C (**Löbenberg, 2006**).

Dans notre cas, le temps de désintégration examiné pour nos comprimés immergés dans l'eau distillée qu'est de 31 min s'est avéré en concordance avec ceux trouvés par certains auteurs (**Benahmed Djilali et al.,2011**) 2 heures, mais une valeur assez élevée par rapport aux résultats obtenus par d'autres auteurs pour des comprimés d'autres natures, 6–12 minutes pour les comprimés d'*ilicifolia* de Maytenus (**Soares, 2005**) et 0,31–11,28 minutes pour les comprimés du paracétamol (**Lefevre, 2003**).

Le temps de désintégration de nos comprimés pourrait s'expliquer par le fait que les comprimés sont à base de spiruline pure et présentent une texture dure et subissent une prise d'eau continue sans érosion (**Benahmed Djilali et al.,2011**).

Un tel phénomène est confirmé par les travaux de Benahmed Djilali (**Benahmed Djilali et al.,2011**) par l'examen morphologique des comprimés (100 % spiruline) pendant l'immersion dans l'eau distillée, la solution tampon de phosphate pH 6,8 et HCL 0,1 N.

2.16.4. Dissolution de la phycocyanine

Le processus de dissolution est naturellement influencé par les capacités des comprimés à l'érosion et à la désintégration (**Benahmed Djilali et al.,2011**). Le taux de libération de la phycocyanine de nos comprimés (Figure 35) augmente considérablement dans l'eau distillée comparé aux deux autres liquides examinés, Ce qui pourrait être dû à la structure moléculaire de la substance étudiée et à sa grande affinité à l'eau (hydrophile) (**Hirata, 2000**), Mais le bas taux de libération (17 % en 90 minutes) de la phycocyanine est un facteur important en termes de ses propriétés thérapeutiques puisque une faible dose de phycocyanine est plus efficace comme substance anti-inflammatoire (**Degbey, 2006**).

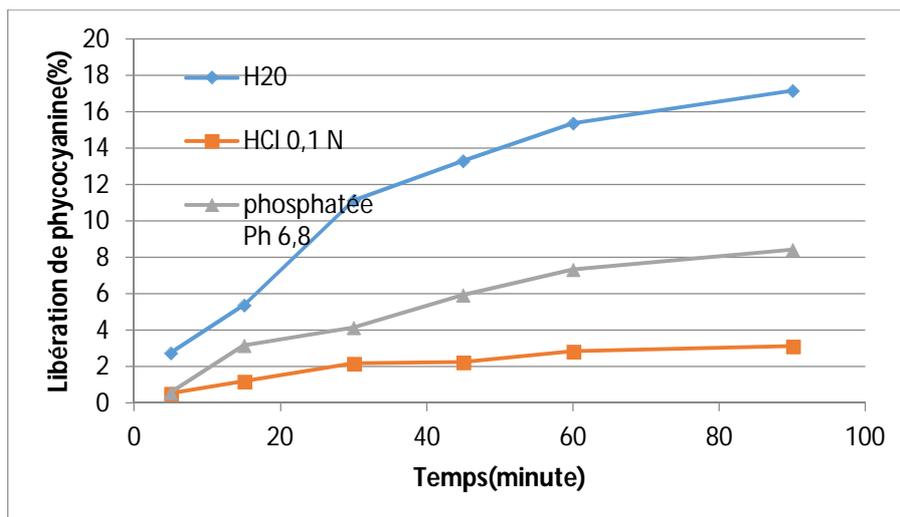


Figure 35 : Taux de libération de phycocyanine en fonction de temps d'immersion pour différents milieux, cas des comprimés.

Les résultats sont en accord avec les investigations au sujet de différentes solutions de dissolution de la phycocyanine (**Jayant Mahadev, 2005**). Cet auteur a constaté que la concentration la plus élevée a été obtenue avec l'eau distillée et la solution tampon phosphatée à pH=6,8 tandis que HCl 0,1 N mène à un taux de diffusion de phycocyanine négligeable, autour de 2% (**Benahmed Djilali et al., 2011**).

Par ailleurs, plusieurs études ont montré les % de libération après 1 h de 30% pour le paracétamol (**Parojcic, 2007**) et de 12% pour metronidazole (**Limmatvapirat, 2008**). Ces résultats rendent les comprimés plus intéressants pour la fonte dans la bouche (pH neutre),

2.16.5. Cinétique de libération de phycocyanine

L'équation Korsmeyer–Peppas décrit convenablement les données expérimentales ($0,92 < R^2 < 0,98$) pour tous les milieux d'immersion utilisés (Figure 36).

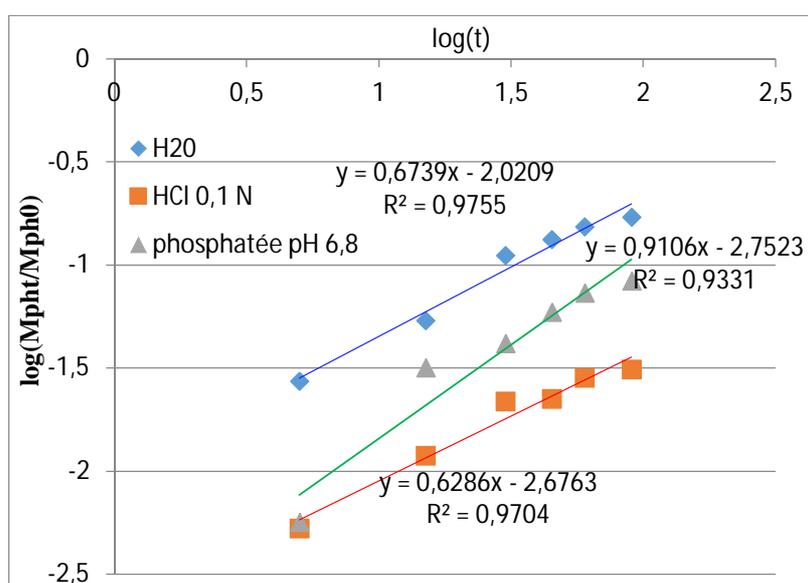


Figure 36 : Libération de la phycocyanine dans les coordonnées log-log pour différents milieux, cas des comprimés.

Tableau 15: Constantes de l'équation Kolsmeyer-Peppas appliquée sur les comprimés.

Milieu de dissolution	Coefficient de corrélation R2	k	n	Type de diffusion	temps de dissolution
Eau distillée	0,9853	$9,55 \cdot 10^{-3}$	0,673	Non-Fickian	90 mn
Solution HCl 0,1 N	0,9699	$1,77 \cdot 10^{-3}$	0,628	Non-Fickian	90 mn
Solution tampon phosphatée pH=6,8	0,9746	$2,11 \cdot 10^{-3}$	0,910	Cinétique d'ordre zéro	90 mn

D'après les valeurs mentionnées dans le Tableau 15, nous avons constaté que $n < 0,89$ alors la diffusion de la phycocyanine est Non-Fickian dans le cas de la solution de l'eau distillée et d'HCl 0,1 c'est à dire le transfert de phycocyanine de la spiruline vers la solution est régie par une loi physique différent de celle décrit par Fick, alors que la dissolution dans la solution tampon phosphatée pH 6,8, le phénomène devient une cinétique d'ordre zéro ($n > 0,89$) c'est à dire la quantité de la phycocyanine libéré est la même pour chaque intervalle de temps .

2.16.6. Valeur nutritionnel et énergétique

Tableau 16 : valeur nutritionnel et énergétique des comprimés

	Teneur moyenne
Protéine (mg)	187
Glucide (mg)	62,73
Lipides (mg)	13,6
Energie brute (cal)	1121,32

La teneur de nos comprimés en protéine qui est de 187 mg représente, 20 % de l'apport journalier Conseillé pour un individu adulte (**Potier et al., 2003**), et une valeurs énergétique brute d'ordre 1121,32 cal, qui est valeur très faible par rapport aux besoins énergétiques quotidienne, qui est d'ordre 20 à 100 kcal adulte (**Potier et al., 2003**).

2.17. Contrôle des gélules

Les gélules obtenues ont une couleur verte claire avec une surface lisse(Figure37), Après remplissage, les gélules sont testées visuellement et aucune, fissure, ou incident de fermeture n'est détecté.



Figure 37 : Les gélules de spiruline (photographie original).

La masse globale d'une gélule est de 500 mg, avec un écart type de 0,25 %, dont le poids de spiruline est de 400 mg, le tableau 17 résume les différentes caractéristiques de nos gélules.

Tableau 17 : Caractéristiques des gélules

Poids de spiruline (mg)	400
Gélule	Gélatine végétale
Couleur	verte
Poids vide (mg)	100
Taille (mm)	0
Uniformité de masse (%)	$\pm 0,01$ à $\pm 0,02$
Temps de désintégration à 37°C (mn)	5

2.17.1. Uniformité de masse

Les gélules confectionnées ont un poids de 500 mg, avec un écart-type de l'ordre de $\pm 0,010$ à $\pm 0,020$, ce qu'indique une uniformité du poids des gélules.

2.17.2. Essai de désintégration

L'essai de dissolution des gélules est précédée par l'essai de désintégration, Ce dernier est adopté pour contrôler la dose des minéraux et des vitamines libérées dans l'eau distillée à 37°C (Löbenberg, 2006).

Dans notre cas, le temps de désintégration examiné pour nos gélules immergés dans l'eau distillée à 37°C est de 5 min, un temps, un temps suffisant pour que la gélule de désintègre pas dans la bouche.

2.17.3. Dissolution de la phycocyanine

Les taux de libération de phycocyanine sont nettement supérieures à celles obtenues lors de la dissolution des comprimés et cela doit être dû à l'absence d'une résistance physique après la désintégration des gélules, contrairement aux comprimés où le processus de dissolution est influencé par les capacités des comprimés à l'érosion et à la désintégration (**Benahmed Djilali et al., 2011**).

De même que pour les comprimés le taux de libération de la phycocyanine de nos gélules (Figure 38) augmente considérablement dans l'eau distillée comparé aux deux autres liquides examinés, ce qui pourrait être dû à la structure moléculaire de la substance étudiée et à sa grande affinité à l'eau (hydrophile) (**Hirata, 2000**). En plus (27 % en 90 minutes) taux de libération de la phycocyanine, qui est une valeur assez faible, est un facteur important en termes de ses propriétés thérapeutiques puisque une faible dose de phycocyanine est plus efficace comme substance anti-inflammatoire (**Degbey, 2006**).

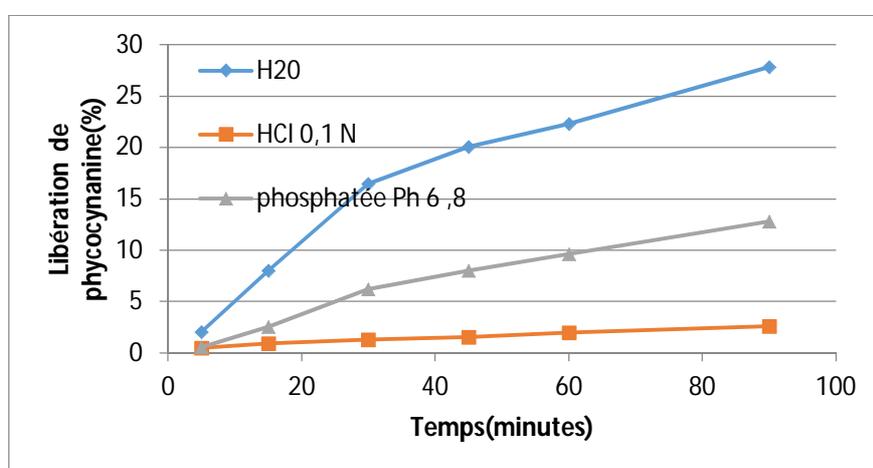


Figure 38 : Taux de libération de phycocyanine en fonction de temps d'immersion pour différents milieux, cas des gélules.

L'étude cinétique de dissolution de phycocyanine en fonction de temps n'est pas élaborée, de fait que les gélules se désintègrent complètement au bout de 5 min, alors la dissolution est gouvernée par la structure moléculaire de la spiruline et pas par la forme, et la nature de la gélule.

2.17.4. Valeur nutritionnel et énergétique

Tableau 18 : Valeur nutritionnel et énergétique des gélules.

	Teneur moyenne
Protéine (mg)	220
Glucide (mg)	73,8
Lipides (mg)	16
Energie brute (cal)	1319,2

La teneur de nos gélules en protéine qui est de 220 mg représente, 25 % de l'apport journalier Conseillé pour un individu adulte (**Potier et al., 2003**), et une valeur énergétique brute d'ordre 1319,2 cal, qui est valeur assez faible par rapport aux besoins énergétiques quotidienne, qui est d'ordre 20 à 100 kcal (**Potier et al., 2003**).

2.18. Stabilité des Gélules et des comprimés

Après 40 jours dans l'étuve, nous avons constaté que :

- Les gélules et les comprimés avaient les mêmes couleurs, et ne présentent aucune moisissures ;
- La pesé des gélules a donné un poids moyen de 500 mg, et la pesé des comprimés a donné un poids moyen de 340 mg ;
- L'analyse microbiologique n'a donné aucun signe de présence de germes ou autres formes de bactéries (Tableau 19) ;
- Les comprimés récupéré après de l'étuve avaient les mêmes caractéristiques physiques (poids, dureté, friabilité, temps de désintégration).

2.19. Control biologique de produit fini

Tableau 19: Résultats des analyses bactériologiques effectué sur les gélules et comprimés.

Les germes	Résultats	Normes
Germes aérobies totaux	Absence	<10 ² UFC/g
Germes fongiques	Absence	< 10 ² UFC/g
salmonelles	Absence	Absence
Coliformes fécaux	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence

Les résultats de l'analyse microbiologique du produit fini(tableau 19) montrent l'absence totale de germes pathogènes et d'altérations. Cette absence totale de la microflore nous renseigne bien sur les conditions d'hygiène des locaux, du matériel et de la qualité des produits utilisés lors de la fabrication.

Les produit est jugé principalement selon sa qualité. Celle-ci comprend plusieurs critères. En effet, le complément alimentaire élaboré est :

- Sans danger pour le consommateur.
- Capable de supporter une durée précise de conservation.

Conclusion

Conclusion

Les travaux présentés dans ce mémoire portent sur l'élaboration d'un complément alimentaire à base de poudre de spiruline pure sous forme de comprimés et de gélules.

Les objectifs fixés de ces travaux se concentrent principalement sur la détermination de la composition nutritionnelle de la poudre de spiruline, ainsi que celles des comprimés et des gélules élaborés, qui se résument à :

- Caractérisation physico-chimique de la poudre de spiruline ;
- Détermination de la composition et apports nutritionnels de la spiruline ;
- Identification et détermination des pigments fonctionnels principaux de la spiruline ;
- Analyses microbiologiques de la poudre de spiruline ;
- Obtention et caractérisation physico-chimiques des comprimés et des gélules ;
- Étude de la dissolution de phycocyanine, pour les comprimés et les gélules.

Au vu des résultats obtenus, l'élaboration d'un complément alimentaire sous forme de comprimés et de gélules à base de poudre de spiruline s'avère possible.

Cette étude de recherche a permis la caractérisation physico-chimique et microbiologique de la poudre de spiruline, en effet la poudre utilisée est très riche en protéines (55%), en glucides (18,45%) et en substances bioactives : phycocyanine (1,75 %); chlorophylle totale (1,02 %), Caroténoïde (0,87 %) et en cendres (9 %), ainsi la poudre est révélée, dans les conditions expérimentales de bonnes qualités microbiologiques.

Les comprimés élaborés par compression directe, ne présentent aucun désavantage au cours de la préparation, le poids de 340 mg a été choisi en fonction de la dureté des comprimés et de la perte de masse. Les caractéristiques physico-chimiques des comprimés s'avèrent dans les normes.

L'essai de la dissolution de phycocyanine pour le cas des comprimés donne un taux de libération au bout de 17 % après 90 min, le temps de désintégration est de 31 min.

Les gélules élaborées présentent une stabilité biologique importante en effet, après 45 jours d'incubation, aucune anomalie visuelle, biologique ou physique n'est observée.

La faible valeur des lipides, pourrait être due à l'oxydation des lipides insaturés, une oxydation qui est inhibée par la vitamine K (tocophérol) (**Falquet, 2006**). Une hypothèse à vérifier par le dosage de la vitamine K dans la spiruline.

Les comprimés mis au point peuvent être assimilés à un complément alimentaire à usage multiple : 1) consommation telle quelle par toutes les catégories de consommateurs; 2) alimentation des patients pour qui il est difficile de mâcher et d'avaler les aliments sachant que ces comprimés peuvent être sucés ou ingurgités et 3) comme support naturel et bon marché de divers principes actifs pharmacologiques.

Au premier abord les gélules de spiruline peuvent séduire par leur facilité d'utilisation et par l'absence de goût, mais elles sont généralement peu dosées donc peu économiques. La présentation en comprimés 100 % spiruline est beaucoup plus intéressante car elle évite de consommer des additifs comme la gélatine soit animal ou végétale (extrait de cellulose ou d'algue marine) qui contiennent des résidus de solvants chimiques nécessaire pour leur transformation.

L'analyse de ces derniers a été réalisée en appliquant les mêmes procédés que ceux utilisés dans l'industrie pharmaceutique. Ainsi la détermination de certaines propriétés physico-chimiques de comprimés (dureté, friabilité, temps de désintégration, dissolution de la phycocyanine) a été étudiée dans trois milieux différents imitant certaines conditions physiologiques (eau distillée, solution saline phosphatée à pH 6,8 et HCl 0,1 N).

En perspective il serait intéressant de réaliser les points suivants ;

- Continuer la quantification des nutriments de la spiruline, notamment les sels minéraux et les vitamines ;
- Faire une étude de stabilité à longue durée pour déterminer la date limite de consommation pour les gélules et les comprimés ;
- Faire des formulations mixtes par incorporation de la spiruline avec, d'autres aliments riches en glucide (tel que dattes, figes), à fin d'augmenter la valeur nutritionnelle et énergétique des comprimés et des gélules ;
- Étude *in vitro* de la spiruline, sur les effets thérapeutiques (anti-inflammatoire) ;
- Elaboration des compléments alimentaires à base de spiruline sous d'autres formes galéniques effervescentes, sachets.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Bibliographie

Allen T. «Granulométrie.» *Tech. de l'Ingénieur N° 1040*, 1988.

Alvarez-Lorenzo C., Gomez-Amoza J.L., Martinez-Pacheco R., Souto C.,-Lorenzo Concheiro A. «Evaluation of low-substituted hydroxypropylcelluloses (LHPCs) as filler-binders for direct compression.» *Int. J. Pharm*, n° 197 (2000): 107-116.

ANSES. «alimentations humaines, quelles sont les compléments alimentaires?» Paris, 2010.

Antenna technologie. *Antenna technologie*. 2017. www.antenna-technologies.net/.

Arrêté du 8 septembre 1977. «Arrêté du 8 septembre 1977 relatif aux méthodes officielles d'analyse des produits diététiques et de régime.» 1977.

Babadzhanov A.S., Abdusamatova N., Yusupova F.M., Faizullaeva N., Mezhlumyan L.G. and Malikova M.Kh. «Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan .» *Chemistry of Natural Compounds*. 40, n° 3 (2004): 276.

Belay A. *Mass culture of Spirulina platensis –The Earthrise farms Expérience. Spirulina platensis (Arthrospira)*. Londres: ED.Avigad Vonshak, Taylor&Francis , 1997.

Belay A. «The potential application of *Spirulina (Arthrospira)* as a nutritional and therapeutic supplement in health management (review.» *Journal. Am. Nutraceutical* 5, n° 2 (2002): 27-48.

Benahmed Djilali A, Benamara S, Saidi N, et Meksoud A. «Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera L.*) and spirulina (*Spirulina sp.*) powders.» *Journal. Powder. Technology. Vol 208*, 2011: 725–730.

Benahmed Djilali A, Saidi N, Meskoud A et Benamara S., «pharmacological and biological proprieties of a mixture of date powders (mech-degla and spirulina).» *The Macrothème Review-A multidisciplinary journal of global macro trends V02*, 2013: 310-320.

Bourgeois C.M. & Leveau J.Y. *Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Vol. 3: Le contrôle microbiologique.*, 2 e éd. Lavoisier-Tec & Doc., 1991.

Branger, B., Cadudal, J.L., Delobel. M., Ouoba. H., Yameogo, P., Ouedraogo, D., Guerin, D., Valea, A., les personnels des CREN, Zombre, C., Ancel, P. «La spiruline comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso.» *Archives de Pédiatrie, Vol 10,*, 2003: 424-431.

Brannon-Peppas, B. «Properties and applications. In : *Polymeric Delivery Systems* (edited by M.A. El-Nokaly, D.M. Piatt & B.A. Charpentier), Pp. 52. ACS Symposium Series 520. Washington, DC.» *merican Chemical Society*, 1993: 52.

Campanella L., Crescentini G. and Avino P. *Chemical composition and nutritional evaluation of some natural and commercial food products based on Spirulina*. Analisis, 1999.

Charlemagne Déborah. *La spiruline : aliment santé ? DIU Alimentation Santé et Micronutrition*. Dijon: Faculté de pharmacie de Dijon, 2008.

Charpy L, Langlade M.J. et Vicente N. « CSSD : Les Cyanobactéries pour la Santé, la Science et le Développement.» *Colloque internationa*. 2004.

Charpy L., Langlade, M.J., Alliod, R. «La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ?» 6, n° 17 (2008): 31-41.

Chen, H., et Pan, S., « Bioremediation potential of spirulina : toxicity and biosorption studies of lead.» *Journal. Zhejiang Univ.SCI. Vol 3,*, 2005: 171-174.

Chisti, Y. «Biodiesel from microalgae.» *Biotechnology Advances* 25 (2007): 294-306.

Comite Uniter Institut. «Minéralisation par voie sèche et destruction de la silice.» Dans *méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux – Oléagineux*, 87-92. comité inter institut d'étude des techniques analytiques, 1973.

Commission Européenne. *EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use Vol. 4.* Bruxelles, 2010.

Corrier, D. E., M. H. Elissalde, R. L. Ziprin, and J. R. DeLoach. «Effect of immunosuppression with cyclophosphamide, cyclosporin, or dexamethasone on Salmonella colonization of broiler chicks.» *Avian Dis* 35 (1991): 40-45.

Degbey, H., Hamadou, B., Oumarou, H., *Evaluation de l'efficacité de la supplémentation en Spiruline du régime habituel des enfants atteints de malnutrition sévère.* Ed. International Symposium on Cyanobacteria for Health, Science and Development , 2006.

Derbre S. «Médicaments, compléments alimentaires, alicaments ou nutraceutiques, comment y voir clair ?» *Actualités pharmaceutiques*, n° 496 (Mai 2010): 15.

Doumandji A et Saidii N. «Etude de L'effet hypocholestérolémiant in vitro et in vivo d'un alicament à base de spiruline et d'un probiotique.» *3eseminaire sur la biologie animale.* Constantine: Université Mentouri, Faculté des sciences de la vie et de la vie, 2011.

Doumandji A, Boutekerbat L, Saidi N A, Doumandji S. «Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal.» *Nature & Technologie*, n° 6 (2011): 40-50.

Dziedzak J.D. «Microencapsulation and encapsulation ingredients.» *Food Technology*, n° 42 (1988): 136-151.

Elyah, A. *Quel avenir pour la spiruline Mémoire Bibliographique.* Montpellier: Université de Montpellier II, 2003.

Fabregas, J, D Garcia, E Morales, A Dominguez, et A. Otero. «Renewal rate of semicontinuous cultures of the microalga *Porphyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharide and fatty acid productivity.» *FERM BIOE*, 86, n° 5 (1998): 477 - 481.

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

FAO/OMS. *vint-sixieme rapport de comité mixte FAO/OMS de additifs alimentaires.* Genève: organisation mondiale de la santé, 1982.

Fox R.D. *Spiruline, Technique pratique et promesse.* Aix en provence: Edi sud, 1999.

G Potier de Courcy, ML Frelut, J Fricker, A Martin, H Dupin, «Besoins nutritionnels et apports conseillés pour la satisfaction de ces besoins.» *Encyclopédie Médico-Chirurgicale 10-308-A-10* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS.), 2003: 1-32.

- Gershwin ME., Belay A.** «Spirulina in Human Nutrition and Health.» *Journal of Applied Phycology* 21, n° 6 (2009): 747-748.
- Girardin-Andréani.** «C. Spiruline: Système Sanguine, Système Immunitaire et Cancer.» *Phytother. Vol 4 4* (2005): 158-161.
- Guiraud J & Galzy P.** «L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires, ,» *Les Editions de l'Usine Nouvelle-Paris*, 1980: 157-158.
- Guiraud J.** *Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques.* Ed, Dunod., 1998.
- Guyot J.C.** «Critères technologiques de choix des excipients de compression directe.» *Sci. Techn. Pharm* 7, n° 10 (1978): 551-559.
- Habib M.A.B., Parvin M., Huntington T.C., Hsen M.R.,** «A Review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish.» *FAP fisheries and aquaculture circular*, n° 1034 (2008): 33.
- Hacène H., Brahimi R. , Benaïcha S. , Ouahrani E.K, Chebhouni N. et Siga A.** «Essais de Production de Protéines d'organismes Unicellulaires (P.O.U.) par des Souches de Spirulina.» *Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, 2001: 65-68.
- HAMMADI S.** «Visite de l'usine Pfizer-SaIdal Manufacturing Vers une augmentation des capacités de production.» *Libeté quotidien Algerien*, Avril 2010.
- Hansmann, E.** *Pigment analysis. In Handbook of Phycological Methods (ed. by J. R. Stein)*, London: Cambridge Univ. Press, 1973.
- Hayakawa Y, Hayashi T, Hayashi K, Hayashi T, Ozawa T, Niiya K, Sakuragawa N.** «Heparin cofactor II-dependent antithrombin activity of calcium spirulan.» *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 5, n° 7 (1996): 554-614.
- Hayashi O., Ono S., Ishii K., Shi Y., Hirahashi T. and Katoh T.** «Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by Spirulina (Arthrospira) platensis in mice.» *Journal of Applied Phycology N° 18 18*, n° 1 (2006): 47-56.
- Hayashi T and Hayashi K.** «Calcium Spirulan, an Inhibitor of Enveloped Virus Replication, from a Blue-Green Alga Spirulina platensis .» *Journal of Natural Products.* 59, n° 1 (1996): 83-90.
- Heinzen C.** «Microencapsulation solve time dependent problems for foodmakers.» *Food and Drink Rev* 3, 2002: 27-30.
- Hir A.** *bonnes pratiques de fabrication des médicaments «Pharmacie galénique: », 8è Edition.* M maison, 2001.
- Hirata T, Tanaka M, Ooike M, Tsunomura T, Sakaguchi M.** «Activités antioxydantes de la phycocyanobiline préparée à partir de Spirulina platensis.» *Journal of Applied Phycology* 12 (2000): 435-439.
- Hudson B.J.F & Karis I.G.** «The Lipids of the Alga Spirulina.» *Journal of the Science of Food and Agriculture* 25 (1974): 759-763.

ISO 4832. «Microbiologie des aliments : Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes – Méthode par comptage des colonies.» 2006.

ISO 6888. «Microbiologie des aliments : Directives générales pour le dénombrement de Staphylococcus Auréus – Méthode par comptage des colonies;» 1983.

ISO 7402. «Microbiologie des aliments : Directives générales pour le dénombrement sans revivification des Enterobacteriaceae – Méthode par comptage des colonies.» 1993.

J.P. Jourdan, *Cultivez votre spiruline , manuel de culture artisanale.* 2012.

Jahn, W., Steinbeiss, J., Zetsche, K., «Light intensity adaptation of phycobiliprotéine content of the red alga Porphyridium.» *Planta, Vol 161,* 1984: 536-539.

Jaouen P, Lépine B, Rossignol N, «Clarification and concentration with membrane technology of a phycocyanin solution extracted from Spirulina platensis.» *Biotechnology Techniques 13* 13, n° 12 (1999): 877-881.

Jayant Mahadev, D. JR. «An improved and efficient method for the extraction of different pH media on the dissolution of hydrochlorothiazide from directly compressed tablets.» *AAPS. Pharm. Sci. Tech. Vol 6, N°1* 6, n° 1 (2005): 120–126.

JOCE N° 109. «Directive 2000/13/CE du Parlement européen et du conseil du 20 mars 2000 relative au rapprochement des législations des États membres concernant l'étiquetage et la présentation des denrées alimentaires ainsi que la publicité faite à leur égard.» *Journal officiel de l'Union N°109,* 2000.

JOCE N°043. «Règlement (CE) N°258/97 du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 1997 relatif aux nouveaux aliments et aux nouveaux ingrédients alimentaires.» *ournal officiel N°043 du14 février 1997* (ournal officiel N°043 du14 février 1997), 1997: 1-7.

JOCE N°1333. «Règlement (CE) N° 1333/2008 du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires.» *Journal officiel de l'Union européenne, 31 décembre 2008,* 2008.

JOCE N°1334. «Règlement (CE) N° 1334/2008 du Parlement Européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif aux arômes et à certains ingrédients alimentaires possédant des propriétés aromatisantes qui sont destinés à être utilisés dans et sur les denrées alimentaires.» *Journal officiel de l'Union européenne, 31 décembre 2008,* 2008: 1-17.

JOCE N°180. «Décret n° 2001-725 du 31 juillet 2001 relatif aux auxiliaires technologiques pouvant être employés dans la fabrication des denrées destinées à l'alimentation humaine.» *Journal officiel N° 180 du 5 Août 2001.,* 2001.

JOCE N°183. «parlement européen et du conseil du 10 juin 2002 relative au rapprochement des législations des Etat membres concernant les compléments alimentaires.» *Journal officiel L 183 du 12 juillet 2002,* 2002: 51.

JOCE N°267. «Arrêté du 17 novembre 2006 modifiant l'arrêté du 9 mai 2006 modifié relatif aux nutriments pouvant être employés dans la fabrication des compléments alimentaires.» *Journal officiel 267 du 18 novembre 2006,* 2006: 7.

JOCE N°404. «Règlement (CE) N°1924/2006 du Parlement européen et du conseil du 20 décembre 2006 concernant les allégations nutritionnelles et de santé portant sur les denrées alimentaires.» *Journal officiel de l'Union européenne L 404 du 30/12/2006*, 2006.

Kapoor R et Mehta U. «Iron bioavailability from *Spirulina platensis*, whole egg and whole wheat.» *Indian journal of experimental biology* 30, n° 10 (1992): 904-907.

Kim CJ, Yoon SK, Kim HI, Park YH, Oh HM. «Effect of *Spirulina platensis* and probiotics as feed additives on growth of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*.» *Journal of Microbiology and Biotechnology*, n° 16 (2006): 1248-1254.

Korsmeyer, R.W., R. Gurny, E.M. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas. «Mechanism of soluterelease from porous hydrophilic polymers.» *Int. Journal.Pharm.* 15 (1983): 25-35.

L, BOUKLI. «Saïdal, Un groupe industriel aux grandes ambitions.» *Eldjzaiерcom*, n° 63 (JUIN 2013).

Langlade M.J, Alliod.R, Charpy.L. *Utilisations de la Spiruline autrement que pour traité la malnutrition.* Marseille: URCYROCO, IRD, COM, 2010.

Larpent JP. *Microbiology Alimentaire Technique de Laboratoire.* Paris: Tec & Doc, 1997.

Lee J-B., Srisomporn P., Hayashi K., Tnaka T., Sankawa U. «Effects of Structural Modification of Calcium Spirulan, a Sulfated Polysaccharide from *Spirulina Platensis*, on Antiviral Activity.» *Chem Pharm Bull* 49, n° 1 (2001): 105-110.

Lefevre, P., Dupas, H. « Method for preparing a sweetening tablet and resulting capsules on the Canadian market.» *Journal. Pharm. Pharm. Sci. Vol 9*, 2003.

Lefevre. P, Dupas .H. *Method for preparing a sweetening tablet and resulting sweetening tablet.* WIPO Patent Application, WO/2003/00192., 2003.

Liang, C.M. «Treatment of vascular Leakage and related syndrome such as asptic shack by administration of metalloproteinase inhibitors.» *Us. Pateni*, n° 5 (1999): 570-866.

Limmatvapirat, S., Limmatvapirat, C.H., Puttipipatkachorn, S., Nunthanid, J., Luangtana-anan, M., Sriamornsak, P. «Modulation of drug release kinetics of shellacbased matrix tablets by in-situ polymerization through annealing process.» *Eur. Journal. Pharm. Biopharm.* 69, n° 3 (2008): 1004-1013.

Lindblad P., Oxelfelt F., Tamagninit P, Troshina O. « Cyanobacterial Biotechnology Nostoc PCC 73102 and H 2 : Knowledge, Research and Biotechnological Challenges ».» 1998.

Liu Y., Xu L., Cheng N., Lin L. and Zhang C. «Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells.» *Journal of Applied Phycology* 12, n° 2 (2000): 125-130.

Löbenberg, R., Steinke, W. «Investigation of vitamin and mineral tablets and phycocyanin from *Spirulina sp.*» *Journal. Food. Eng. Vol 8, N°5 8*, n° 5 (2006): 2.

Luc Méjean, Aude Hyardin, Alexia Cuny. «La fonctionnalité alimentaire : illusion aujourd'hui, réalité demain.» *LET.SC.IFN. N° 116, NOVEMBRE 2006.* Nancy: l'Institut Français pour la Nutrition, 2006.

Lüning, K.. *Seaweed. Their environment, biogeography, and ecophysiology.* In: Yarish, C., Kirkman, H. New York, USA: (Ed) Wiley,, 1990.

Manoj G, Venkataraman L.V, Srinivas, L., *Antioxydant properties of spirulina (Spirulina platensis).* Seshadri and Bai Spirulina MCRC, 1992.

Masson R. *Le guide des Vrais Compléments alimentaires.* France: Gut Thrédaniel éditeur, 2009.

Mathe.T, Pilorin.T, Hebel. P, Denizeau. M. «Discours nutritionnel aux représentations de l'alimentation.» *CREDOC, Cahier de recherche N°252.* 2008.

MELISSA. «Activity, Final Report for 2001; Prepared by : The MELISSA Partners, Edited by : Ch. Lasseur, C. Paillé, A. Rodriguez, ESA/MCT/2002/3237/In/CHL.» 2002.

Miron, J., E. Yosef, et D. Ben-Ghedalia. «Composition and in vitro monosaccharide constituents of selected byproduct feeds.» *J. Agric. Food Chem* 49 (2003): 2322-2326.

Mishima T., Murata J., Toyoshima M., Fujii H., Nakajima M., Hayashi T., Kato T. and Saiki I. «Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*.» *Clinical and Experimental Metastasis* 15 (2009): 1951-1961.

NA 7401. «Détermination du taux de cendres total et du taux de cendres sulfatées.» 2008.

NA.1132. «Tiré de la méthode normalisée AFNOR NF ISO 711 de juin 1989.» 1990.

NA1182. «tiré de la méthode normaliser AFNOR NF ISO .730 de novembre1998.» 1991.

NF V 08-059. «Microbiologie des aliments : Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25°C.» 2002.

NF V 08-301. «Microbiologie alimentaires : Produits déshydratés – Examen microbiologique.» normes Francaises, 1983.

NF V03-905. «ISO 659 Graines oléagineuses - Détermination de la teneur en huile (Méthode de référence).» *normes Francaises.* AFNOR, 2009.

Okoye, E.I., Onyekweli, A.O., Ohwoavworhua, F.O., Kunle, O.O., «Comparative study of some mechanical and release properties of paracetamol tablets formulated with.» *African Journal of Biotechnology* 8, n° 16 (2009): 3970-3973.

Ou Y, Lin L, Yang X, Pan Q, Cheng X. «Antidiabetic potential of phycocyanin: effects on KKAY mice.» *Pharm Biol* 51, n° 5 (2013): 539-544.

Pardhasaradhi B.V.V., Ali A.M., Kumari A.L., Reddanna P. and Khar A. «Phycocyanin-mediated apoptosis in AK-5 tumor cells involves down-regulation of Bcl-2 and generation of ROS.» *Molecular Cancer Therapeutics*, 2003.

Parojcic, J., Vasiljevic, D., Ibric, S., Djuri, Z., «Tablet disintegration and drug dissolution in viscous media: paracetamol IR tablets.» *Int. Journal. Pharm. Vol* 355 11, n° 58 (2007): 93-99.

Pasqualoto, K.F.M., Teofilo, R.F., M. Guterres, M., Pereira, F.S. Ferreira, M.M.C. «A study of physicochemical and biopharmaceutical properties of Amoxicillin tablets using full factorial design and PCA biplot.» *Anal. Chim. Acta. Vol* 595, 2007: 216–2.

Pharmacopée Européenne. *Pharmacopée Européenne 6^{ème} éd.* Strasbourg,: Service Européen de la Qualité du Médicament, Conseil de l'Europe, 2009.

Pharmacopée Européenne. *Pharmacopée Européenne 3^{ème} éd.* Strasbourg,: Service Européen de la Qualité du Médicament, Conseil de l'Europe, 1997.

Peppas NA. «Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers.» *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 1985.

Pétrus M., L. Assih, B. Horen, P. Lapebie, A. Trigatti, R. Culerrier, A. Barre, P. Rouge, G. Dutau,. «Premier cas d'allergie à la spiruline chez un enfant de treize ans.» *Revue Française d'Allergologie* 50, n° 5 (2010): 470-472.

Piñero Estrada J.E., Bermejo Bescòs P, Villar del Fresno A.M. «Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract.» *Il Farmaco*, n° 56 (2001): 497-500.

Planes P, Rouanet J.M, Laurent C , Baccou J.-C. , Besancon P. , Caporiccio B. «Magnesium bioavailability from magnesium-fortified spirulina in cultures human intestinal Caco-2 cells.» *Food chemistry* 7, n° 2 (2002): 213-218.

Pothakamury, U.R. & Barbosa-Canovas, G.V. «Fundamental aspects of controlled release in foods.» *Trends in Food Science and Technology*, 1995.

Pr LüsherMax. «The psychological influence of capsule colours on the therapeutic effect of a drug.» 1999.

Qureshi M. «Immune enhancement potential of spirulina in chickens.» *Journal of Poultry N°73*, n° 73 (1994): 46.

Qureshi M. «*Spirulina platensis* exposures enhances macrophage phagocytic function in cats.» *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, n° 18 (1996): 457-463.

Rachel Frély. *Le guide des compléments alimentaires Bien les choisir et savoir les utiliser.* Chariot d'or, 2012.

Ramamoorthy A, Premakumari S., «Effect of supplementation of *Spirulina* on hypercholesterolemic patients.» *Journal of Food Science and Technology*, n° 33 (1996): 124-128.

Rangsayatorn, N., Pokethitiyook, P., Upatham, ES., Lanza, GR. «Cadmium biosorption by cells of *Spirulina platensis* TISTR 8217 immobilized in alginate and silica gel.» *Environ Int.* Vol 30, N° 1, 2004: 57-63.

Reddy M.C., Subhashini J., Mahipal S.V., Bhat V.B., Srinivas Reddy P. «C-Phycocyanin, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophage.» *Biochemistry and Biophysics Research Communication* 2, n° 304 (2003): 385-392.

Regunathan C et Wesley SG. «Pigment deficiency correction in shrimp broodstock using *Spirulina* as a carotenoid source.» *Aquaculture Nutrition*, n° 12 (2006): 425-432.

Remirez D., Fernández V., Tapia G., Gonzalez R. and Videla L.A. «Influence of C-phycoyanin on hepatocellular parameters related to liver oxidative stress and Kupffer cell functioning.» *Inflammation Research*, n° 51 (2002): 351-356.

- Romay C., Ledon N. and Gonzalez R.** «Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation.» *Inflammation Research*, n° 47 (1998): 334-338.
- Romay, C.H., González, R., Ledón, N., Ramirez, D., Rimbau, V.,** (2003). C-. C-*phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects.* Curr. Prot. Pept. Sci. Vol 4,, 2003.
- Ross E, Dominy W.** «The nutritional value of dehydrated, blue-green algae (*Spirulina platensis*) for poultry .» *Poultry Science*, 1990.
- Rudolph J.S., Sepelyak R.J.** «Validation of solid dosage form.» *3e éd Dekker Inc. Pharmaceutical Process Validation.* (Université Henri Poincaré - Nancy 1:Faculté De Pharmacie), 2003: 198-229.
- Ruiz G.** *Thèse doctorat : Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges.* Université de Limoges, Chimie appliquée-Chimie des Substances Naturelles, 2005.
- Saggai A.** *Compatibilité des eaux des nappes de la région d'Ouargla pour la culture de spiruline arthrospira platensis (souche de Tamanrasset).* Université Kasdi Merbah-Ouargla, faculté des sciences et des sciences de l'ingénieur, 2008.
- Sall M.G, Dankoko B., Badiane M, Ehua E. et Kuakuwin N.** «La spiruline: une source alimentaire à promouvoir.» *Médecine d'Afrique Noire* 3, n° 46 (1999): 2.
- Samira, Chader.** *Bio hydrogène : efficacité de conversion et rendement énergétique.* Alger: Bulletin des Energies Renouvelables, CDER., 2007.
- Samuels R, Mani UV, Iyer UM, Nayak US,.** «HHypocholesterolemic effect of spirulina in patients with hyperlipidemic nephrotic syndrome.» *J Med Food* 2, n° 5 (2002): 91-96.
- Serena Benedetti, Francesca Benvenuti, Silvia Pagliarani, Sonia Francogli, Stefano Scogliob, Franco Canestrari.** «Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*.» *Life Sciences* 75 (2004): 2353–2362.
- SFNS.** *Recommandations sur la prise en charge nutritionnelle des sportifs de haut niveau de performance dans le cadre réglementaire du suivi médical.* Société Française de Nutrition du Sport, Comité scientifique. , 2007.
- Shizhong, L, Xueming, L, Feng, C, et Zijian, C,.** «Current microalgal health food R & D activities in China.» *Hydrobiologia*. 512 (2004): 45-48.
- Siepmann J et Peppas NA.** «Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC).» *Advanced Drug Delivery Reviews Mathematical Modeling of Controlled Drug Delivery* 48, n° 3 (2001): 139–157.
- Soares, G.G. L.A.L., Ortega, P.R. Petrovick, P.C. Schmidt.** «Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts.» *AAPS. Pharm. Sci. Tech* 6, n° 3 (2005): 359–366.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E,.** «Isambert A Commercial Applications of Microalgae.» *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101 (2006): 87-96.

Sriamornsak, P., Thirawong, N., Weerapol, Y., Nunthanid,J., Sungthongjeen, S., «Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug Release behavior.» *Eur. Journal. Pharm. Biopharm* 67 (2007): 1004-1013.

Subhashini J., Mahipal S.V.K., Reddy M.C., Reddy M.M, Rachamalla A. and Reddanna. «Molecular mechanisms in C-Phycocyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562.» *Biochemical Pharmacology* 68, n° 3 (2004): 453-462.

Toyomizu M, Sato K, Taroda H, Kato T, Akiba Y., «Effects of dietary Spirulina on meat colour in muscle of broiler chickens.» *British Poultry Science* 42 42, n° 2 (2001): 197-202.

Vadiraja BB, Gaikwad NW, Madyastha KM. «Hepatoprotective Effect of C-Phycocyanin Protection for Carbon Tetrachloride and R(-/+)-Pulegone-Mediated Hepatotoxicity in Rat.» *Biochemical and Biophysical Research Communication N°249 2*, n° 249 (1998): 428-459.

VenkataramanL.V et Anusuya D.M. «Supplementary value of the proteins of the blue-green algae Spirulina platensis to rice and wheat proteins.» *Nutr. Rep. Internat* 28 (1983): 1029-1035.

Vidal-Tessier A.-M. «La lettre phytothérapique du Pharmacien – La galénique en Phytothérapie à l’officine.» *Revue critique sur les formes phytothérapiques, en particulier celles destinées aux préparations magistrales*, 1988.

Villepin.D, Breton.T, Clément.P, Betrand.X, Bussereau.D. «Décret du N° 2006-352 du 20 mars 2006 relatif aux compléments alimentaires.» Paris, 2006.

Watanuki H, Ota K, Tassakka ACMAR, Kato T, Sakai M, «Immunostimulant effects of dietary Spirulina platensis on carp, Cyprinus carpio.» *Aquaculture*, n° 258 (2006): 157-163.

Weil J. H. *Biochimie générale 6ème édition*,. Paris: Editions Masson, 2006.

Wihitton, B.A., et Potts, M .,. *Introduction to the cyanobacteria, in"The Ecology of Cyanobacteria : their diversity in time and space.* Ed Boston, Kluwer Academic publishers, 2000.

Wilmotte, A.,. *Les cyanobactéries, comment exploiter au mieux la lumière? In: Probio Service. Recueil trimestriel. 26ème année. N°3.* Belgium: Association des professeurs de biologie PROBIO ASB, 2007.

Xue C, Hu Y, Saito H, Zhang Z, Li Z. Cai Y. Ou C. Lin H. Imbs A. «Molecular species composition of glycolipids from Spirulina platensis.» *Food Chemistry*, 2002.

Zeng, Z., Liang, M.S. «Production of Spirulina drink,(in Chinese).» *Food. Sci* 16, n° 7 (1995): 390-418.

Tables des matières

Introduction.....	3
Prtie I : Etude bibliographique	
Chapitre I : Généralites sur la spiruline	
I. Présentation de la spiruline	3
I.1. Définition	3
I.2. Morphologie et caractères généraux.....	3
I.3. Production.....	4
I.3.1. Bassins de culture.....	4
I.3.2. Milieu de culture	5
I.3.3. Ensemencement.....	5
I.3.4. La filtration	5
I.3.5. Lavage et essorage.....	5
I.3.6. Le Séchage	6
I.4. Conditionnement et conservation.....	6
I.5. La spiruline un aliment fonctionnel.....	7
I.5.1. Valeur nutritionnelle.....	7
I.5.2. Valeur énergétique	8
I.5.3. Valeur sensorielle	8
I.5.4. Valeur fonctionnelle	8
I.6. Constituants et apports nutritionnelles de la spiruline.....	8
I.6.1. Les protéines	9
I.6.1.1. Composition et valeur biologique	9
I.6.1.2. Acides Amines	9
I.6.2. Glucides	9
I.6.3. Les vitamines	10
I.6.4. Lipides	10
I.6.5. Sels minéraux et oligo-éléments	11
I.6.5.1. Calcium.....	11
I.6.5.2. Magnésium.....	11
I.6.5.3. Phosphore.....	11
I.6.5.4. Fer.....	12
I.6.5.5. Zinc.....	12
I.6.5.6. Sélénium	12
I.6.6. Les pigments	12
I.6.6.1. La phycocyanine	12
I.6.6.2. La chlorophylle	13

I.6.6.3.	Les caroténoïdes.....	13
I.7.	Les utilisations de la spiruline.....	13
I.7.1.	Utilisation de la spiruline à usage humain.....	13
I.7.1.1.	Aliment riche et équilibrée.....	14
I.7.1.2.	Utilisation dans un régime amaigrissant.....	14
I.7.1.3.	Amélioration de la capacité des sportifs.....	14
I.7.1.4.	Cosmétique.....	15
I.7.1.5.	L'agroalimentaire.....	15
I.7.1.6.	L'aérospatiale.....	15
I.7.1.7.	Pour la santé.....	15
I.7.2.	Spiruline à usage animal.....	15
I.7.2.1.	Favoriser la croissance et la fertilité.....	16
I.7.2.2.	Renforcer défenses immunitaires.....	16
I.7.2.3.	Augmenter la pigmentation.....	16
I.7.2.4.	Augmenter les performances des animaux.....	16
I.8.	Activités thérapeutiques de la spiruline et de ses constituants.....	16
I.8.1.	Constituants fonctionnels principaux.....	16
I.8.1.1.	La phycocyanine.....	16
I.8.1.2.	Le calcium-spirulan.....	17
I.8.2.	Activités spécifiques de la spiruline et de ses principaux composants.....	17
I.9.	Toxicité et surdosage de la spiruline.....	18
I.10.	Réaction allergiques.....	18
I.11.	Marché de la spiruline.....	18
I.12.	La spiruline en Algérie.....	19

Chapitre II :Généralités sur l'encapsulation des aliments

II.	Généralités sur l'encapsulation des aliments.....	20
II.1.	Intérêts de l'encapsulation.....	20
II.2.	Libération contrôlée d'un principe actif (PA).....	20
II.3.	Les gélules ou capsules dures.....	20
II.3.1.	Définition.....	20
II.3.2.	Différents types de gélules.....	20
II.3.2.1.	Selon leur composition.....	21
II.3.2.2.	Selon leur taille et leur couleur.....	21
II.3.3.	Conservation.....	22
II.3.4.	Remplissage de la gélule.....	22

II.3.5.	Fabrication des gélules dans l'industrie.....	23
II.3.6.	Les contrôles des gélules	23
II.3.6.1.	Essais sur les gélules vides.....	23
II.3.6.2.	Essais sur les gélules pleines.....	23
II.3.7.	Avantages Et Inconvénients.....	24
II.3.7.1.	Avantage	24
II.3.7.2.	Inconvénients.....	24
II.4.	Les comprimés.....	24
II.4.1.	Définition.....	24
II.4.2.	Les différents types de comprimés.....	25
II.4.2.1.	Les comprimés non enrobés.....	25
II.4.2.2.	Les comprimés enrobés.....	25
II.4.2.3.	Les comprimés gastro-résistants.....	25
II.4.2.4.	Les comprimés à libération modifiée.....	25
II.4.2.4.1.	Comprimé à libération prolongée.....	25
II.4.2.4.2.	Comprimé à libération modifiée	25
II.4.3.	Formulation des Comprimés.....	25
II.4.3.1.	Les différents types d'excipients	26
II.4.3.1.1.	Les diluants.....	26
II.4.3.1.2.	Les liants ou agglutinants	26
II.4.3.1.3.	Les lubrifiants	26
II.4.3.1.4.	Les délitants ou désintégrants	26
II.4.3.2.	Les adjuvants divers.....	27
II.4.3.2.1.	Les mouillants.....	27
II.4.3.2.2.	Les substances tampons.....	27
II.4.3.2.3.	Les colorants.....	27
II.4.3.2.4.	Les adsorbants et absorbants.....	27
II.4.3.3.	Rôle des excipients	27
II.4.4.	Mode de fabrication.....	27
II.4.5.	Contrôles réalisés sur les comprimés	28
II.4.5.1.	Contrôles du produit en cours de procédé.....	28
II.4.5.2.	Contrôles du produit fini	28
II.4.6.	Avantages et Inconvénients	29
II.4.6.1.	Avantages	29
II.4.6.2.	Inconvénients.....	29

Chapitre III : Généralités sur Les compléments alimentaires

III.	Généralités sur les compléments alimentaires	30
III.1.	Définition	30
III.2.	Utilisation des compléments alimentaires	30
III.3.	Distinction avec les médicaments	30
III.4.	Marché des compléments alimentaires.....	31
III.5.	Réglementation des compléments alimentaires	32
III.5.1.	Réglementation en Europe.....	32
III.5.2.	Composition qualitative et quantitative.....	32
III.5.3.	Les allégations.....	33
III.5.4.	Etiquetage et publicité	34
III.6.	Intérêt de la prise de compléments alimentaires	35
III.6.1.	Les besoins nutritionnels	35
III.6.2.	Les Apports Nutritionnels Conseillés (ANC).....	35
III.6.3.	Les Apports Journaliers Recommandés (AJR)	35
III.6.4.	Energie brute(EB)	35
III.6.4.1.	La prise de compléments alimentaires chez un individu sain.....	35
III.6.4.2.	La prise de compléments alimentaires chez un sportif.....	36
III.6.4.3.	La prise de compléments alimentaires la femme enceinte	36
III.6.5.	Classification des compléments alimentaires	36
III.6.6.	Nutriments	37
III.6.7.	Substances.....	37
III.6.8.	Plantes.....	37
III.6.9.	Autres ingrédients	37
III.6.10.	Additifs, arômes et auxiliaires technologiques	37

Prtie II : Etude expérimentale

Chapitre I: Materiel et methodes

I.1.	Présentation du groupe SAIDAL	39
I.1.1.	Historique.....	39
I.1.2.	Présentation de l'unité biotical Médéa	39
I.2.	Matériel et méthodes	40
I.2.1.	Matériel.....	40
I.2.1.1.	Verreries	40
I.2.1.2.	Appareillages	40
I.2.1.3.	Milieux de cultures.....	40
I.2.1.3.1.	Milieu solide	41

I.2.1.3.2. Milieu liquide	41
I.2.1.4. Échantillonnage	41
I.2.2. Matériel Algale : la spiruline	41
I.3. Méthodes d'analyses	42
I.3.1. Caractérisation physico-chimique de la poudre de spiruline	42
I.3.1.1. Le pH	42
I.3.1.2. La teneur en matière sèche	42
I.3.1.3. Détermination de l'acidité titrable	43
I.3.1.4. La teneur en protéines	44
I.3.1.5. La teneur en cendres	46
I.3.1.6. Teneur en lipides	47
I.3.1.7. Teneur en glucides	48
I.3.1.8. Teneur en métaux lourds	49
I.3.2. Extraction des pigments hydrosolubles	50
I.3.2.2.1. Quantification de la chlorophylle	51
I.3.2.2.2. Dosage colorimétrique de la phycocyanine	51
I.3.2.2.3. Dosage colorimétrique des caroténoïdes	52
I.3.3. Analyses microbiologiques	52
I.3.3.1. Préparation des dilutions décimales	52
I.3.3.2. Recherche et démembrement de la flore microbienne	53
I.3.3.2.1. Recherche et dénombrement de la flore mésophile totale	53
I.3.3.2.2. Recherche et dénombrement de coliformes totaux	54
I.3.3.2.3. Recherche et dénombrement des Staphylococcus aureus	55
I.3.3.2.4. Recherche et dénombrement des salmonelles	59
I.3.3.2.5. Recherche et dénombrement de Clostridium Sulfito réducteur	57
I.3.3.2.6. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	57
I.3.3.2.7. Recherche des levures et moisissures	58
I.4. Obtention et caractérisation des comprimés (spiruline)	59
I.4.1. Formulation des comprimés	59
I.4.2. Certaines caractéristiques physico-chimiques des comprimés	60
I.4.2.1. La friabilité (perte en masse des comprimés)	60
I.4.2.2. La dureté (résistance à la rupture)	61
I.4.2.3. Le temps de désintégration (désagrégation)	62
I.4.2.4. Essai de stabilité	62
I.4.2.5. Dissolution de phycocyanine	62
I.4.2.6. L'étude de cinétique de libération de la phycocyanine	63
I.5. Mise en gélule	64

I.5.1.	Déterminations de l'uniformité de masse.....	65
I.5.2.	Détermination du temps de désagrégation.....	65
I.5.3.	Dissolution de phycocyanine	65
I.6.	Essai de stabilité.....	65

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1.Caractérisation microbiologique des matières premières	66
II.2.Caractéristiques physico-chimiques de la poudre de spiruline	66
II.2.1.Le pH	67
II.2.2.La teneur en eau	67
II.2.3.L'acidité titrable	67
II.2.4.La teneur en cendres	67
II.2.5.La teneur en protéines	67
II.2.6.Teneur en matière grasse	68
II.2.7.Teneur en glucides	68
II.2.8.Teneur en matière sèche	68
II.2.9.La composition minérale	68
II.3.Pigments de la spiruline	68
II.4.Caractéristiques physico-chimiques des comprimés	70
II.4.1.Dureté	70
II.4.2.Friabilités	70
II.4.3.Essai de désintégration	71

II.4.4.....	Dissolution de la phycocyanine	71
II.4.5.....	Cinétique de libération de phycocyanine	72
II.4.6.....	Valeur nutritionnel et énergétique	73
II.5.	Contrôle des gélules	73
II.5.1.....	Uniformité de masse	74
II.5.2.....	Essai de désintégration	74
II.5.3.....	Dissolution de la phycocyanine	74
II.5.4.....	Valeur nutritionnel et énergétique	75
II.6.	Stabilité des Gélules et des comprimés	75
II.7.	Control biologique de produit fini	75
Conclusion		76
Bibliographie.....		78
Annexes .		

Annexes

ANNEXE (1)

La composition de milieux de culture

Eaux physiologique

Chlorure de sodium.....	9g
Eau distillée.....	1000mL

Gélose viande foie(VF)

Base viande foie.....	30g
D glucose	2g
Amidon.....	2g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000mL

Bouillon Giolitti Cantonii

Peptone de caséine.....	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure.....	5g
Pyruvate de sodium.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Eau distillée.....	1000mL

Bouillon SFB

Peptone.....	5g
Tryptone.....	5g
Manitol.....	4g
Phosphate d'isodique.....	4g
Eau distillée.....	1000mL

MILIEU HEKTOEN

PEPTONE PEPSINE DE VIANDE.....	15g
EXTRAIT DE VIANDE.....	3g
EXTRAIT DE LEVURE.....	12g
LACTOSE SALICINE	2g
SACCHAROSE.....	12g
CHLORURE DE SODIUM.....	5g
SELS BILLIAIRES	4g
BLEU DE BRAMATHYMOL.....	0,064g
FUCHINE ACIDE.....	0,1g
AGAR.....	18g
Eau distillé.....	1000mL

GELOSE T.G.E.A(TRYPTHONE, GLUCOSE a l'extrait de levure ,agar)

PEPTONE DE CASEINE.....	5g
EXTRAIT DE LEVURE.....	30g
EXTRAIT DE VIANDE.....	1g

TRYPTONE.....	15g
LAIT PEPTONISE.....	15g
Gelose.....	15g
Eau distille.....	1000mL
Ph final.....	5.4

Milieu Rothe

Peptone.....	20g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate di potassique.....	2.7g
Phosphate mono potassique.....	2.7
Azothhydrate de sodium.....	2g
Eau distille.....	1000L

Milieu lactose bille au vert brillant (VBL)

Bile de bouf déshydraté	20g
Lactose.....	10g
Peptone.....	10g
Vert brillant.....	1.5 mg
PH.....	7.2

Additifs

a- Sulfite de sodium

- Sulfite de sodium.....5g
- Eau distille.....100mL

b- alun de fer

- alun de fer
- eau distille

c – solution de tellurite de potassium

- tellurite de potassium
- eau distille.....1000mL

Annexe2

a)Table de MAC-GRADY

Nombre caractéristique	Nombre de Micro-organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0

230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

Annexe2

b) Table de NPP

1*50 mL	5*10mL	5*1mL	Nombre caractéristique	Limite d'inférieur	supérieur
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0.5	4
0	0	2	2	<0.5	6
0	1	0	1	<0.5	4
0	1	1	2	<0.5	6
0	1	2	3	<0.5	8
0	2	0	2	<0.5	6
0	2	1	3	<0.5	8
0	2	2	4	<0.5	11
0	3	0	3	<0.5	8
0	3	1	5	<0.5	13
0	4	0	5	<0.5	13
1	0	0	1	<0.5	4
1	0	1	3	<0.5	8
1	0	2	4	<0.5	11
1	0	3	6	<0.5	15
1	1	0	3	<0.5	8
1	1	1	5	<0.5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0.5	13
1	2	1	7	1	17

1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	10
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	1
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	240		



Spiruline
Bio algues tunisiennes

Spiruline

Algue Spiruline pure sans conservateurs

Composition: 100% algues spiruline, sans conservateurs, sans colorants, sans sucre, sans sel, sans gluten, sans lactose, sans OGM, sans produits chimiques.

Richement en protéines, en chlorophylle, en vitamines B1, B2, B12, B13, B4, B5, B6, B8, B9, B17, B19, B20, B21, B22, B23, B24, B25, B26, B27, B28, B29, B30, B31, B32, B33, B34, B35, B36, B37, B38, B39, B40, B41, B42, B43, B44, B45, B46, B47, B48, B49, B50, B51, B52, B53, B54, B55, B56, B57, B58, B59, B60, B61, B62, B63, B64, B65, B66, B67, B68, B69, B70, B71, B72, B73, B74, B75, B76, B77, B78, B79, B80, B81, B82, B83, B84, B85, B86, B87, B88, B89, B90, B91, B92, B93, B94, B95, B96, B97, B98, B99, B100, B101, B102, B103, B104, B105, B106, B107, B108, B109, B110, B111, B112, B113, B114, B115, B116, B117, B118, B119, B120, B121, B122, B123, B124, B125, B126, B127, B128, B129, B130, B131, B132, B133, B134, B135, B136, B137, B138, B139, B140, B141, B142, B143, B144, B145, B146, B147, B148, B149, B150, B151, B152, B153, B154, B155, B156, B157, B158, B159, B160, B161, B162, B163, B164, B165, B166, B167, B168, B169, B170, B171, B172, B173, B174, B175, B176, B177, B178, B179, B180, B181, B182, B183, B184, B185, B186, B187, B188, B189, B190, B191, B192, B193, B194, B195, B196, B197, B198, B199, B200, B201, B202, B203, B204, B205, B206, B207, B208, B209, B210, B211, B212, B213, B214, B215, B216, B217, B218, B219, B220, B221, B222, B223, B224, B225, B226, B227, B228, B229, B230, B231, B232, B233, B234, B235, B236, B237, B238, B239, B240, B241, B242, B243, B244, B245, B246, B247, B248, B249, B250, B251, B252, B253, B254, B255, B256, B257, B258, B259, B260, B261, B262, B263, B264, B265, B266, B267, B268, B269, B270, B271, B272, B273, B274, B275, B276, B277, B278, B279, B280, B281, B282, B283, B284, B285, B286, B287, B288, B289, B290, B291, B292, B293, B294, B295, B296, B297, B298, B299, B300, B301, B302, B303, B304, B305, B306, B307, B308, B309, B310, B311, B312, B313, B314, B315, B316, B317, B318, B319, B320, B321, B322, B323, B324, B325, B326, B327, B328, B329, B330, B331, B332, B333, B334, B335, B336, B337, B338, B339, B340, B341, B342, B343, B344, B345, B346, B347, B348, B349, B350, B351, B352, B353, B354, B355, B356, B357, B358, B359, B360, B361, B362, B363, B364, B365, B366, B367, B368, B369, B370, B371, B372, B373, B374, B375, B376, B377, B378, B379, B380, B381, B382, B383, B384, B385, B386, B387, B388, B389, B390, B391, B392, B393, B394, B395, B396, B397, B398, B399, B400, B401, B402, B403, B404, B405, B406, B407, B408, B409, B410, B411, B412, B413, B414, B415, B416, B417, B418, B419, B420, B421, B422, B423, B424, B425, B426, B427, B428, B429, B430, B431, B432, B433, B434, B435, B436, B437, B438, B439, B440, B441, B442, B443, B444, B445, B446, B447, B448, B449, B450, B451, B452, B453, B454, B455, B456, B457, B458, B459, B460, B461, B462, B463, B464, B465, B466, B467, B468, B469, B470, B471, B472, B473, B474, B475, B476, B477, B478, B479, B480, B481, B482, B483, B484, B485, B486, B487, B488, B489, B490, B491, B492, B493, B494, B495, B496, B497, B498, B499, B500, B501, B502, B503, B504, B505, B506, B507, B508, B509, B510, B511, B512, B513, B514, B515, B516, B517, B518, B519, B520, B521, B522, B523, B524, B525, B526, B527, B528, B529, B530, B531, B532, B533, B534, B535, B536, B537, B538, B539, B540, B541, B542, B543, B544, B545, B546, B547, B548, B549, B550, B551, B552, B553, B554, B555, B556, B557, B558, B559, B560, B561, B562, B563, B564, B565, B566, B567, B568, B569, B570, B571, B572, B573, B574, B575, B576, B577, B578, B579, B580, B581, B582, B583, B584, B585, B586, B587, B588, B589, B590, B591, B592, B593, B594, B595, B596, B597, B598, B599, B600, B601, B602, B603, B604, B605, B606, B607, B608, B609, B610, B611, B612, B613, B614, B615, B616, B617, B618, B619, B620, B621, B622, B623, B624, B625, B626, B627, B628, B629, B630, B631, B632, B633, B634, B635, B636, B637, B638, B639, B640, B641, B642, B643, B644, B645, B646, B647, B648, B649, B650, B651, B652, B653, B654, B655, B656, B657, B658, B659, B660, B661, B662, B663, B664, B665, B666, B667, B668, B669, B670, B671, B672, B673, B674, B675, B676, B677, B678, B679, B680, B681, B682, B683, B684, B685, B686, B687, B688, B689, B690, B691, B692, B693, B694, B695, B696, B697, B698, B699, B700, B701, B702, B703, B704, B705, B706, B707, B708, B709, B710, B711, B712, B713, B714, B715, B716, B717, B718, B719, B720, B721, B722, B723, B724, B725, B726, B727, B728, B729, B730, B731, B732, B733, B734, B735, B736, B737, B738, B739, B740, B741, B742, B743, B744, B745, B746, B747, B748, B749, B750, B751, B752, B753, B754, B755, B756, B757, B758, B759, B760, B761, B762, B763, B764, B765, B766, B767, B768, B769, B770, B771, B772, B773, B774, B775, B776, B777, B778, B779, B780, B781, B782, B783, B784, B785, B786, B787, B788, B789, B790, B791, B792, B793, B794, B795, B796, B797, B798, B799, B800, B801, B802, B803, B804, B805, B806, B807, B808, B809, B810, B811, B812, B813, B814, B815, B816, B817, B818, B819, B820, B821, B822, B823, B824, B825, B826, B827, B828, B829, B830, B831, B832, B833, B834, B835, B836, B837, B838, B839, B840, B841, B842, B843, B844, B845, B846, B847, B848, B849, B850, B851, B852, B853, B854, B855, B856, B857, B858, B859, B860, B861, B862, B863, B864, B865, B866, B867, B868, B869, B870, B871, B872, B873, B874, B875, B876, B877, B878, B879, B880, B881, B882, B883, B884, B885, B886, B887, B888, B889, B890, B891, B892, B893, B894, B895, B896, B897, B898, B899, B900, B901, B902, B903, B904, B905, B906, B907, B908, B909, B910, B911, B912, B913, B914, B915, B916, B917, B918, B919, B920, B921, B922, B923, B924, B925, B926, B927, B928, B929, B930, B931, B932, B933, B934, B935, B936, B937, B938, B939, B940, B941, B942, B943, B944, B945, B946, B947, B948, B949, B950, B951, B952, B953, B954, B955, B956, B957, B958, B959, B960, B961, B962, B963, B964, B965, B966, B967, B968, B969, B970, B971, B972, B973, B974, B975, B976, B977, B978, B979, B980, B981, B982, B983, B984, B985, B986, B987, B988, B989, B990, B991, B992, B993, B994, B995, B996, B997, B998, B999, B1000.

Conservez à l'abri de la lumière et de l'humidité.
Préférez de consommer dans le mois après ouverture.

Ferme Marine Bio-Algues BP: 51 Keour Essaf 5100 Tunisia
Tel: 216 98 41 41 53

Spiruline
www.bioalgues.com