



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida -1-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et Organismes

Mémoire de Fin d'Etude En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Biologie

Option : Biodiversité et physiologie végétale

Thème :

**Etude de l'adaptation morpho physiologique
de deux souches de l'espèce *Arthrospira*
platensis dans différents milieux de culture**

Présenté par :

le 12.09.2019

Mlle Bouizzoul Djena
Mlle Makboul Kahina

Devant les jurys:

Mrs Gadioura. A
Mme Bradea M.S
Mme Cherif H. S
Mrs Messaouden .H

MCB
Pr
MCA
Ingénieur

UB1
UB1
UB1

Président
Examinatrice
Promotrice
Invité

Promotion: 2018-2019

remerciements

Au terme de ce travail;

Nous remercions tout d'abord "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la foi,

Qui nous a guidé et a éclairé notre chemin pour la réalisation et l'élaboration de
notre projet de fin d'étude.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à :

Notre promotrice Mme **Cherif H.S** maitre de conférence classe A à USDB pour
son encadrement apprécié,

Ses orientations et ses encouragements qui nous ont permis de mener à bien ce
travail.

Nous tenons à remercier **Mrs Gadioura.A** maitre de conférence classe B à USDB
d'avoir accepter de présider le jury de ce mémoire.

Notre gratitude va également à **Mme Bradea M.S.** professeure à USDB d'avoir
accepter d'examiner ce travail.

On teint à remercier particulièrement **Mrs Messaouden H** ingénieur en
aquaculture pour leurs conseils et orientations vers le succès.

Nous remercions vivement **Mrs Hamitouche D** professeur à CRAPC et son
collègue de travail docteur **Tahraoui . H** qui nous ont soutenu durant notre partie
expérimentale.

Un merci de tout cœur à tous les enseignants sans exception et à toutes les
personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Enfin, merci à tous nos proche.

Dédicaces

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à:
Ceux que j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et
dont je suis très fière de les avoir et tout les mots du
monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que
je leur porte: mes très chers parents.*

Mes frères Ahmed et Ibrahim El Khalil

À toute la famille Bouizzoul et Hafsi

(zoubir et Khadidja)

Et à mon binôme Kahina

Mes amies: Hiba, Zinebe et Kahina

Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

Toute la promotion 2018

Biodiversité et physiologie végétale

Djeny

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à:

Ceux que j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et dont je suis très fière de les avoir et tout les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte: mes très chers parents.

Mes frères Maamar, Abd el Kader, Razik, Raafet et Noufel.

Et a mes belles sœurs Louiza, Nessrine et Rima.

À toute la famille Makboul et Becheroule

Et à mon binôme Djena

Et un remerciement spécial a Amine

Mes amies: Selma, Sarra et Djena

Tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

Toute la promotion 2018

Biodiversité et physiologie végétale

Kahina A

Abstract

Our study focused on the adaptation forms of *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) (of two strains, the right and the spiral) in different culture media (Hiri, Zarrouk, Messaouden, sea water).

The studied parameters are: the morphological development, the percentage of the mass algae, purity and concentration of Phycocyanin, concentration of chlorophyll (a+ b). Dry spirulina was used to analyze the fat concentration, prepare an aqueous extract, carry out a photochemical screening, and for the study qualitative by high performance liquid chromatography (HPLC).

By optical microscope, it was observed and found the presence of a high density in filaments in Messaouden and Hiri circles and low density in Zarrouk environment and middle of the sea water.

The percentage of the mass of the alga in Hiri and Zarrouk environments varies from (2.3 to 2.5), and the Phycocyanine concentration extracted from the different biomasses are clearly Superior in Messaouden, Zarrouk, and Hiri circles with values of (0.0212, 0.0215, 0.0211) .The concentration of chlorophyll (a + b) extracted at from different biomasses, varies from (5.19 to 6.78) in Messaouden and Zarrouk environments.

The percentage of the fat varies from (5.31 to 7.25) of the dry weight of spirulina consisting of lipids. The result of phytochemical screening indicates the presence of tannins, flavonoids, sterols, coumarins, saponosides, alkaloids and proteins.

the result of HPLC shows that *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968), contains several vitamins between other tocopherol, provitamin A (β -carotene), pigment tell that chlorophyll (a + b).adaptable spirulina, to the different cultures tested, and its adaptation is in function of the nutrients of each environment, environmental conditions .

Key words: *Arthrospira platensis*, culture medium, adaptation, culture.

ملخص

ركزت دراستنا على أشكال تكيف *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) السلالتين (المستقيمة و لولبية) في أوساط نمو مختلفة (حيري , زروق, مسعودان و ماء البحر).

النقاط المدروسة هي: التطور المورفولوجي ، النسبة المئوية لكتلة طحلب، نقاء وتركيز فيكوسيانين ، تركيز الكلوروفيل (أ + ب).

سبيرولينا المجففة استخدمت لتحليل تركيز الدهون ، و المستخلص المائي لها، اجري له فحص ضوئي كيميائي ، و دراسة نوعية بواسطة اللوني السائل عالي الأداء (HPLC).

بواسطة المجهر الضوئي ، لوحظ وجود كثافة عالية لخيوط سبيرولينا في الوسطين مسعودان وحيري وانخفاض الكثافة في بيئة زروق ووسط مياه البحر.

النسبة المئوية لكتلة الطحالب في الوسطين حيري و زروق تتراوح من (2.3 إلى 2.5) ، ومن الواضح أن تركيز الفيكوسيانين المستخلص من مختلف الكتل الحيوية عالي في الأوساط مسعودان ، زروق وحيري مع القيم التالية (0.0212 ، 0.0215 ، 0.0211).

تركيز الكلوروفيل (أ + ب) المستخلص من مختلف الكتل الحيوية ، يختلف من (5.19 إلى 6.78) في الوسطين مسعودان وزروق.

تتراوح نسبة الدهون بين (5.31 إلى 7.25) من الوزن الجاف للسبيرولينا. نتيجة الفحص الكيميائي النباتي تشير إلى وجود : العفص ، الفلافونويد ، ستيروول ، كومارين ، سابونوسيدات ، قلويدات وبروتينات

ونتيجة HPLC تظهر أن *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) ، تحتوي على العديد من الفيتامينات بين توكوفيرول ، بروفيتامين أ (كاروتين)، الكلوروفيل (أ + ب).

سبيرولينا قابلة للتكيف ، مع أوساط النمو المختلفة التي تم اختبارها ، والتكيف معها حسب العناصر الغذائية في كل وسط ، والظروف البيئية ونوع سبيرولينا (سلالة لولبية والسلالة المستقيمة).

الكلمات المفتاحية: *Arthrospira platensis* ، أوساط النمو ، تكيف .

Résumé

Notre étude a porté sur les formes d'adaptation d '*Arthrospira platensis* (**Léonard ,1968**) (de deux souches, la droite et la spirale) dans différents milieux de culture (Hiri, Zarrouk, Messaouden, Eau de mer).

Les paramètres étudiés sont : le développement morphologique, le pourcentage de la masse de l'algue, la pureté et la concentration en Phycocyanine, la concentration de la chlorophylle (a+b). La spiruline sèche a été utilisée pour analyser la concentration en matières grasses, préparer un extrait aqueux, effectuer un screening photochimique, et pour l'étude qualitative par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Par microscope optique, il a été observé et constaté la présence d'une densité importante en filaments dans les milieux Messaouden et Hiri et une faible densité dans le milieu Zarrouk et milieu de l'eau de mer

Le pourcentage de la masse de l'algue dans les milieux Hiri, et Zarrouk varie de (2.3 à 2.5), et la concentration en Phycocyanine extraite à partir des différentes biomasses sont nettement Supérieures dans les milieux Messaouden, Zarrouk, et Hiri avec des valeurs

respective de (0.0212, 0.0215, 0.0211).La concentration de la chlorophylle (a+b) extraite à partir de différentes biomasses, varie de (5.19 à6.78) dans les milieux Messaouden et Zarrouk

Le pourcentage de la matière grasse varie de (5.31 à 7.25) du poids sec de spiruline constitué lipides. Le résultat de screening phytochimique indique la présence des tanins, des flavonoïdes stéroïdes, des coumarines, des saponosides, des alcaloïdes et des protéines

le résultat d'HPLC montre que l '*Arthrospira platensis* (**Léonard ,1968**), contient plusieurs vitamines entre autres tocophérol, provitamine A (β -carotène), pigment tel que la chlorophylle (a+b) la spiruline s'adapte, aux différents milieux de cultures testés, et son adaptation est en fonction des nutriments de chaque milieu, des conditions de l'environnement.

Mots clé : *Arthrospira platensis*, milieu de culture, adaptation, culture.

Liste des abréviations

ARDA : Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis

NAZA : National Aeronautics and Space Administration.

Ω 3 : Oméga-3 (acide gras).

Ω 6 : Oméga-6 (acide gras).

SIDA : Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PC : Phycocyanine.

PER :Protein Efficiency Ratio

DO : Densité optique.

pH : potentiel hydrogène.

HPLC :Chromatographie en phase liquide à haute performance.

CRAPC : Centre de Recherche scientifique et technique en Analyses Physico-Chimiques.

GRAS : (Generally Recognized As Safe)

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

CT : Cholestérol Total

LDL : Low Dentensity lipoproteins

HDL: Hight density lipoproteins,

IMC : Indice de Masse Corporelle ;

COX-2 : Cyclooxygénase 2;

MDA: Malondialdehyde ;

SOD: Super Oxyde Dismutase ;

LT CD4+ : Lymphocytes T CD4

IgE : Immunoglobuline E ;

ASAT : Aspartate Amino Transférase,

ALAT : ALanine Amino Transférase.

Liste des figures

Figure n°01 : Morphologie de différents types cellulaires des cyanobactéries filamenteuses	05
Figure n° 02 : Lz forme de l <i>Arthrospira platensis</i> et <i>Spiruline subsala</i>	06
Figure n°03 : Différentiation entre <i>Spirulina maxima</i> et <i>Spirulina platensis</i> (Filaments de spiruline observés au microscope optique).....	07
Figure n°04 : Différentes formes de spiruline (Charpy et <i>al.</i> 2008).....	09
Figure n°05 : Morphologie d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard 1964).....	10
Figure n°06 : Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa, 2005).....	11
Figure n°07 : La spiruline sous forme liquide et sèche (originale2019).....	21
Figure n°08 : Les appareilles utiliser.....	(annexe II)
Figure n°09 : Culture de la spiruline.....	23
Figure n°10 : Schéma générale du protocole expérimental.....	23
Figure n°11 : Multiplication de la culture	25
Figure n°12 : Filtration de la spiruline (originale 2019)	26
Figure n°13 : Spiruline sous forme sèche	26
Figure n°14 : Extrait aqueux brut d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard ,1968).....	29
Figure n°15 : Système d'HPLC utilisé dans l'étude chromatographique.....	(annexe II)
Figure n°16 : Observation sous microscope de la souche droite de spiruline Gr100x10....	33
Figure n°17 : Observation sous microscope de la souche spirale de spiruline Gr100x10....	33
Figure n°18 : Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M5 ,M6)de spiruline (annexe III)	
Figure n°19 : Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M1 ,M3)de spiruline (annexe III)	
Figure n°20 : Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M7 ,M8)de spiruline... (annexe III)	

Liste des tableaux

Tableau n°I : Différences morphologiques entre le genre <i>Spirulina</i> et <i>Arthrospira</i>	06
Tableau n° II : Distribution géographique naturelle de <i>Spirulina platensis</i>	12
Tableau n° III: Classification de la spiruline <i>Arthrospira platensis</i>	13
Tableau n° IV : Composition générale d' <i>Arthrospira platensis</i> (Léonard ,1964).....	16
Tableau n° V : Récapitulatif du potentiel thérapeutique de la spiruline : études in vitro et in vivo chez l'animal et l'homme (Manet, 2016).....	17
Tableau n° VI: les différents milieux de culture.....	22
Tableau n° VII: Résultats de l'observation microscopique et macroscopique.....	34
Tableau n° VIII: estimation de la masse de la spiruline, la concentration et du taux de pureté de la concentration de la Phycocyanine.....	36
Tableau n° IX : Concentration de la chlorophylle (a+b) selon la culture de milieu utilise...	38
Tableau n° X : résultat de la masse de la matière grasse dans chaque milieu de culture.....	39
Tableau n° XI : Résultats du criblage phytochimique.....	40
Tableau n° XII :): temps de rétention des standards utilise dans l'étude chromatographique.....	(annexe II)
Tableau n° XIII : Résultats de l'HPLC.....	41
Tableau n° XIV : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M5,M)...	(annexe III)
Tableau n° XV : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M1,M3)...	(annexe III)
Tableau n° XVI : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M7,M8)...	(annexe III)

Table de matières

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Chapitre I : Les cyanobactéries filamenteuses

I.1.Historique.....	03
I.2. Morphologie des cyanobactéries filamenteuses	04
I.3. Biotope.....	05
I.4. Taxonomie de genre.....	05

Chapitre II. Spiruline

II.1. Historique.....	09
II.2. Description.....	09
II.3. Morphologie.....	10
II.4. Biotope et répartition géographique de l spiruline.....	12
II.5. Systématique	12
II.6. Les Composition chimique de la spiruline.....	13
II.6.1. Protéines et acides aminés.....	15
II.6.2. Acides gras.....	15
II.6.3. Sels minéraux et oligo-éléments.....	15
II.6.4. Vitamines.....	16
II.6.5. Pigments.....	16
II .7. Utilité d'<i>Arthrospira platensis</i> (Léonard ,1968).....	17
II.8.Intérêts alimentaires et biotechnologies du genre <i>Arthrospira</i>.....	19

II.8.1. Aspects alimentaires.....	19
II.8.2. Aspects thérapeutiques.....	20
II.8.3. Aspects toxicologiques.....	20
II.8.4. Aspects biotechnologiques.....	20

Chapitre III :Matériel et méthodes

III.1. Matériel.....	21
III.1.2.Matériel biologique.....	21
III.2.2 Matériel non biologique.....	22
III.2.Méthodes.....	22
III.2.1. Conditions essentielles de culture.....	22
III.2.2. Ensemencement.....	24
III.2.3. Suivi de la croissance.....	24
III.2.4. Observations microscopiques des échantillons.....	25
III.2.5. Séchage.....	25
III.3 Analyse et dosage de la production de Phycocyanine.....	26
III.4 analyse de la chlorophylle « a+b	27
III.5. Détermination du taux de matières grasses.....	28
III.6.Méthodes d'extraction pour le criblage chimique et la caractérisation par HPLC.....	29
III.6.1. Préparation de l'extrait aqueux (EA).....	29
III.6.2 Analyse qualitative par HPLC.....	29

III.6.3. identification des métabolites I ^{air} et II ^{air} par Screening chimique	30
III.6.3.1.Détection des poly phénols.....	31
III.6.3.2. Tests des terpènes.....	32
III.6.3.3Métabolites primaires.....	32

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Identification de la souche de la spiruline étudiée.....	33
IV.2.Etude morphologique des échantillons.....	34
IV.3.Composition d' <i>Arthrospira platensis</i> en divers pigments.....	36
IV.2.1.La Phycocyanine.....	36
IV.3.2. Dosage Chlorophylle (a+b).....	38
IV.4.Résultats de matières grasses.....	39
IV.5. Screening phytochimique des extraits aqueux.....	39
IV.6. Résultats de la caractérisation par HPLC.....	40
Conclusion.....	41
Annexe	43
Références bibliographiques	

Dans le groupe des cyanobactéries, anciennement appelées algues bleues, Existe le genre *Spirulina* ou *Arthrospira* (**Sguera, 2008**).Le genre *Arthrospira* se développe naturellement dans les eaux alcalines de certains lacs en zones chaudes (**Fox, 1999**), à cause de la présence des conditions favorables (pH, salinité, température) pour sa croissance.

Arthrospira est une cyanobactérie qui se caractérise par la production d'une grande Variété de substances intéressantes, tel que : des Protéines, des lipides et de nombreux Minéraux et vitamines. (**Sirnoval, 1993**).

En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la Phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique. Certaines études sur la composition de la spiruline ont entre autres mis en évidence des activités sur le système immunitaire, le cancer, le SIDA mais aussi des effets dans la lutte contre le vieillissement cellulaire, des propriétés hépato protectrices, et anti-inflammatoires (**Chaumont , 1995**).

Dans notre travail, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'adaptation et la diversité morphologique, physiologique, et biochimique de la spiruline du genre *Arthrospira* .

Pour ce faire, nous nous sommes assigné les objectifs suivants :

Notre prnciplae objectifformes d'adaptation d'*Arthrospira platensis* (**Léonard ,1968**) (les deux souches la droite et la spirale) dans différents milieux de cultures (Hiri, Zarrouk, Messaouden, Eau de mer) Pour ce faire, nous avons suivre les étapes suivantes :

- Ensemencement d'*Arthrospira platensis* (**Léonard ,1968**) dans plusieurs milieux de culture sélectifs,
- Suivit et étude de la croissance d'*Arthrospira platensis* (**Léonard ,1968**) sur les différents milieux,
- Détermination du taux de pureté et la concentration de Phycocyanine, et la masse d'algue,
- Dosage de la chlorophylle (a+b),
- Caractérisation par chromatographie des autres pigments photosynthétiques,
- Détermination du taux de matières grasses,

- Détection des métabolites primaires et secondaires.

CHAPITRE I

Les cyanobactéries filamenteuses

I.1. Historique

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques capables de synthétiser la chlorophylle en utilisant le H₂O comme donneur d'électron qui mène à la production d'oxygène. Ce sont également les seuls procaryotes à réaliser la photosynthèse oxygénique, similairement aux algues et les plantes supérieures **(Mary, 2003)**.

Leur longue histoire évolutive est considérée comme une des raisons pour le succès des cyanobactéries dans beaucoup d'habitats même les plus extrêmes et dans leur grande tolérance écologique **(Ballot, 2004)**.

Les cyanobactéries présentent une très grande diversité morphologique, elles peuvent être unicellulaires ou filamenteuses, regroupées en colonies, ou sous forme isolée

Les principaux genres des cyanobactéries filamenteuses responsables de l'apparition des fleurs d'eaux sous les conditions favorables sont : *Anabaena*, *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Arthrospira*, *Oscillatoria*, *Nodularia*, *Nostoc* et *Planktothrix* et dont certaines espèces peuvent synthétiser des cyanotoxines responsables de plusieurs intoxications animale et humaine **(Debois, 2007)**.

Peu d'études ont été réalisées sur les cyanobactéries filamenteuses, autres qu'*Arthrospira*, en vue de l'utilisation alimentaire pour l'homme, sans doute par manque de traditions culinaires et en raison de difficultés techniques.

Microcoleus chthonoplastes joue un rôle fondamental dans l'exploitation des marais salants en constituant une couche multistratifiée et épaisse de plusieurs millimètres recouvrant le fond des bassins en permettant la récolte du sel sans se mélanger avec la vase; la culture de *Rivularia mesenterica* pourrait aussi être intéressante dans la mesure où, dans la nature, son développement est très rapide; de même *Lyngbya majuscula*, qui forme des touffes atteignant plusieurs centimètres, devrait aussi constituer un bon matériel pour l'aquaculture.

I.2. Morphologie des cyanobactéries filamenteuses

En fonction de leur complexité, les cyanobactéries filamenteuses présentent plusieurs types cellulaires (**Fig.1**), ils ont existés:

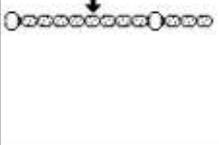
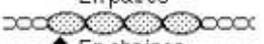
- **Les cellules végétatives** sont des formes variées (rondes, ovoïdes, oblongues, quadratiques) et avec un contenu cellulaire homogène ou non, avec ou sans vacuoles à gaz. Elles sont responsables de l'activité photosynthétique et de la nutrition carbonée de l'organisme.
- **Les hétérocystes** sont des cellules à parois épaisses, habituellement translucides, qui se rencontrent chez certaines cyanobactéries filamenteuses (dites hétérocystées). Ils sont le site de la fixation d'azote et se forment à partir des cellules végétatives en conditions limitantes d'azote. L'hétérocyste est caractérisé par la présence de nodules polaires aux points d'attache aux cellules végétatives et suivant les espèces on rencontre des hétérocystes intercalaires et/ou terminaux. Les hétérocystes peuvent être circulaires, ovales, triangulaires, carrés ou rectangulaires.
- **Les akinètes** sont des spores immobiles produites chez les formes filamenteuses hétérocystées. Elles sont résistantes aux conditions défavorables et demeurent viables sur de longues périodes. On les distingue par leur grande taille, leur forme, leur pigmentation modifiée et la présence de nombreux granules cytoplasmiques.

Les akinètes peuvent se former n'importe où sur le filament. On observe cependant souvent une localisation préférentielle au voisinage des hétérocystes.

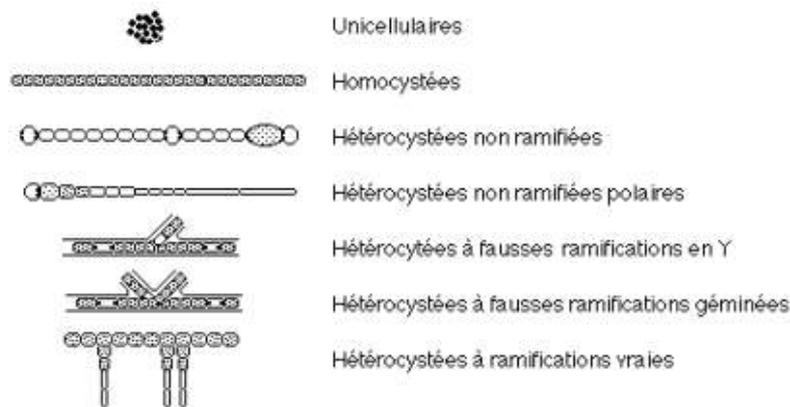
- **Les ramifications** on distingue deux grands types de ramifications chez les cyanobactéries filamenteuses ; les fausses ramifications et les vraies ramifications.
- **Les hormogonies** sont des formes de multiplication asexuée chez certaines cyanobactéries filamenteuses. Ce sont de groupes de cellules qui s'échappent à l'extrémité de la gaine de certaines formes de cyanobactéries filamenteuses ou qui résultent de la germination d'akinètes et peuvent être mobiles ou immobiles.
- **Les gaines** qui peuvent être minces, épaisses, lamellaires ou diffuses.

Il existe aussi d'autres structures, telles que :

- **Le calyptra** est une formation épaissie à l'extrémité de certaines formes filamenteuses.
- **Le necridium** est une structure formée à partir d'une cellule morte qui constitue un point de fracture du filament. **Bouchoukh (2017)**

Cellules végétatives	Hétérocystes	Spores ou Akinètes
Activité photosynthétique	Fixation de l'azote	Conservation Dissémination
	<p>Intercalaire bipolaire </p> <p>Terminal unipolaire </p>	<p> Intercalaires</p> <p> Terminales</p> <p> En paires</p> <p> En chaînes</p>

A partir des caractères morphologiques majeurs facilement observables en microscopie optique, on peut distinguer sept grandes formes morphologiques de cyanobactéries :



Fig(1): Morphologie de différents types cellulaires des cyanobactéries filamenteuses **Bouchoukh (2017)**

I.3. Biotope

Les cyanobactéries filamenteuses sont répertoriées dans la plupart des habitats; elles sont présentes dans tous les pays du monde et en tous lieux, aussi bien dans les milieux aquatiques que dans les milieux désertiques (**Silvano, 2005**).

Les eaux douces sont dominées par les cyanobactéries filamenteuses possédant des vésicules de gaz (*Anabaena flos-aquae*, *Anabaenopsis*, *Lyngbya*, et *Anabaena discoidea*).

Les lacs alcalins des zones tropicales et subtropicales sont dominés par une communauté unique des cyanobactéries caractérisée par un développement massif et la formation des blooms de cyanobactéries filamenteuses ; représentés principalement par les espèces suivantes: *Arthrospira fusiformis*, *Anabaenopsis abijatae*, *Anabaenopsis arnoldii* et *Anabaena sp.*

Les sources chaudes de plusieurs environnements mondiaux sont colonisées par les cyanobactéries filamenteuses thermophiles appartenant aux genres : *Calothrix*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Pseudanabaena*, *Synechococcus*, *Synechocystis* et *Spirulina*.

Les membres des deux genres *Phormidium* et *Synechococcus* sont communément fréquents dans ces habitats thermiques (Ballot, 2004).

I.4. Taxonomie de genre

La confusion entre les deux noms *Arthrospira* et *Spirulina* est due à la décision d'unifier les deux genres *Arthrospira stizenberger* et *Spirulina turpin* sur la base de leurs trichomes en spirale (Gietler, 2005). Néanmoins la "vraie" *Spirulina* n'est pas affiliée au genre *Arthrospira* (Nelissen et al., 1994).

Une fois le genre bien établi, il faut encore ne pas se tromper d'espèce. Les deux espèces les mieux connues sont *Spirulina platensis*, originaire d'Afrique et *Spirulina maxima* originaire d'Amérique centrale (Fox, 1999).

les différences morphologiques sont expliquées dans le tableau(I). Les organismes du genre *Arthrospira* se trouvent communément dans des eaux saumâtres, ainsi que dans des lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (Castenholz et al., 2001).

Les différences entre le genre *Arthrospira* et *Spirulina* sont montrés dans le **tableau (I)** et la **fig (2)** suivant :

Tableau (I) : Différences morphologiques entre le genre *Spirulina* et *Arthrospira* (fox, 1999)

<i>Arthrospira</i>	<i>Spirulina</i>
Trichomes en hélice ouverte	Trichomes en hélice presque fermée
Paroi cellulaire visible si les vacuoles à gaz ne sont pas trop nombreuses	Paroi cellulaire difficilement visible (gaine non prononcée)
Cellules de 6 à 12 µm de large, possibles constriction entre les cellules adjacentes.	Cellules de 2 à 4 µm de large, de forme non fixe et avec peu ou pas de constriction entre les cellules adjacentes.
Mobiles par rotation	Mobilité permanente par rotation
La reproduction s'effectue par scission	

simple ou multiple, par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard ADN : 43 mol% de G+C	La reproduction s'effectue probablement par rupture transcellulaire du trichome. ADN : 44 à 53 mol% G+C
--	--

(Fox, 1999)

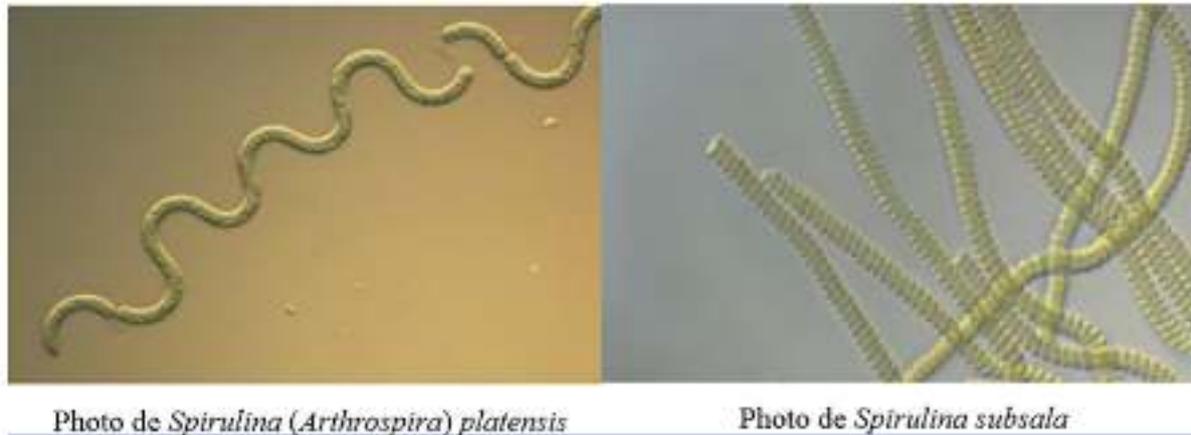


Fig (2) : forme d'*Arthrospira platensis* et *Spiruline subsala* (Fox, 1999)

L'espèce mexicaine *Spirulina (Arthrospira) maxima* se caractérise par des trichomes de 7 à 9 µ de diamètre, de 70 à 80 µ de long, légèrement effilés aux extrémités, formant une spirale régulière de 3 à 8 tours et de 40 à 60 µ de diamètre. Les cellules constituant des trichomes mesurent 5 à 7 µ de long et ne se rétrécissent pas au niveau des articulations.

L'espèce du Tchad *Spirulina (Arthrospira) platensis* se compose de trichomes atteignant 350µ de long, de 5 à 11 µ de diamètre, un peu rétrécis au niveau des articulations. Les tours de spire ont un diamètre de 20 à 50 µ, diminuant légèrement vers les extrémités(fig.03).



Fig (3) : Différentiation entre *Spirulina maxima* et *Spirulina platensis* : Filaments de spiruline observés au microscope optique (fox, 1999).

I.5.Développement biologique des cyanobactéries

Les cyanobactéries se développent sur des surfaces très variées.

L'ensemencement de toute nouvelle surface se fait par arrachement à un substrat colonisé ,puis transport par le vent de spores, cellules ou fragments de filaments **(Brown et al., 1964)**.

Les cyanobactéries vont rapidement se développer et devenir visibles. Ce développement biologique est lié à des facteurs environnementaux, mais également à des éléments omniprésents dans le bâtiment **(Loutz et Dinne ,2000)**.

Chapitre II

la Spiruline

II.1. Historique

Athropsira platensis (Léonard, 1968) est un des plus primitifs organismes apparus sur terre il y a plus de 3,5 milliards d'années. Elle n'a pas évolué, c'est l'ancêtre de tous les organismes vivants, de la lignée animale comme de la lignée végétale (Vidalo, 2008).

Découverte au Mexique en 1492, puis tombée dans l'oubli, la spiruline a été redécouverte en 1939 au Tchad (Vicat et al., 2014). Elle a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de *Spirulina jenneri platensis Nordstedt* (Sguera, 2008).

Elle est cultivée naturellement dans les lacs du Tchad (chez les Kanembous) et dans la vallée de Texcoc au Mexique (chez les Aztèques) (Branger et al., 2003).

Les études sur cette algue ne démarrent véritablement que dans les années 60 et dans les années 70 à l'échelle mondiale, la spiruline devient appréciée dans les pays industrialisés du fait de ses excellentes propriétés nutritionnelles.

Toutefois, il est utile de mentionner l'existence de travaux menés par la NASA et l'agence spatiale européenne quant à l'utilisation d'*Athropsira platensis* (Léonard, 1968) dans de futures stations spatiales (Falquet et Hurmi, 2006).

II.2. Description

La spiruline (Cyanobactérie) *Athropsira platensis* (Léonard, 1968) est une algue bleu-vert microscopique, planctonique, vivant en eau douce, d'aspect spiralée de 0,3 à 1 mm de long, se présente sous formes de filaments constitués des cellules juxtaposées.

La reproduction d'*Athropsira platensis* (Léonard, 1968), asexuées, se fait par division des filaments (Boutalbi, 2014). Cette forme hélicoïdale lui donne l'allure d'un minuscule ressort ce qui lui a valu son appellation de « spiruline », on trouve cependant des spirulines ondulées et des spirulines parfois droites (Geitler, 2005) (Fig.4).

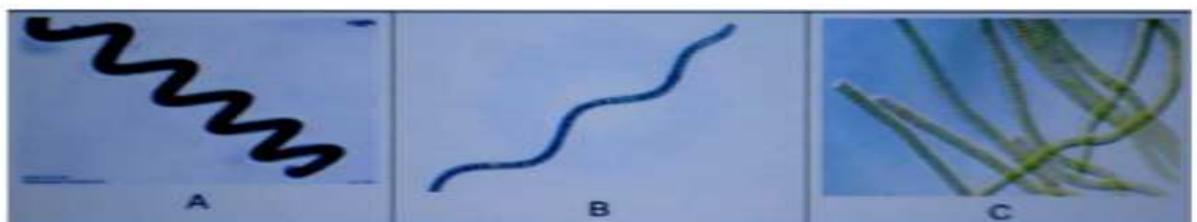


Fig (4): Différentes formes de spiruline (Charpy et al., 2008).

A :forme ondulée

B :forme spiralée

C : forme droite

C'est un procaryote vrai, elle est de type GRAM négative (**Boutalbi, 2014**). Elle est non mobile ou mobile (par glissement ou à l'aide de vacuole à gaz), mais ne possède jamais de flagelles (**Pierlovisi, 2007**) (**Fig 5**).



Fig (5) : Morphologie d'Arthrospira platensis (Léonard, 1968)

II.3. Morphologie

La Spiruline a une longueur moyenne de 250 μm quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12 μm de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, généralement en 6 ou 7 spires, qui ressemblent à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline» (**Geitler, 2005**).

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels que la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice, (**Muhling et al., 2005**). Les filaments d'*Arthrospira* sont motiles, se déplaçant souvent par des mouvements en vrilles à plus de 5 μ par seconde, sa motilité lui sert à se protéger des expositions trop fortes au soleil (**Fox, 1999**).

L'analyse des caractéristiques génétiques de l'espèce *Arthrospira platensis* effectuées par (Scheldeman *et al.*,1999), basées sur l'ARDA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) montre une grande plasticité morphologique.

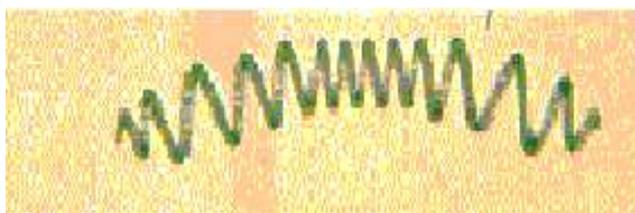
Sachant que certaines souches initialement spiralées peuvent devenir ondulées ou droites (Cruchot, 2008), ceci est peut-être dû aux facteurs physicochimiques exogènes tels que la température, ou d'autres facteurs probablement liés aux changements génétiques (Belay, 2007). Les scientifiques étudiant la spiruline ont donc d'abord pensé qu'il existait de nombreuses espèces d'*Arthrospira* ; en fait, l'analyse de leurs caractéristiques génétiques, effectuées par Scheldeman *et al.* (1999), fait apparaître deux espèces presque identiques d'*Arthrospira*, ils supposent alors que de ces deux espèces (*platensis* et *maxima*) dérivent plusieurs souches.

On distingue plusieurs morphologies "spiralées", "ondulées", et "droites" (fig 06) :

- les "spiralées", désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (variété présente en Inde),
- les "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (variété présente au Pérou),
- les "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes telle la variété M2 (Jarisoia, 2005).



a : Forme spiralée (type « Toliara »)



b : Forme spiralée (type « Lonar »)



c : Forme ondulée (type « Paracas »)



d : Forme droite (type « M2 »)

Fig (6) : Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoia, 2005).

II.4. Biotope et répartition géographique d'*Arthrospira platensis*

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

Tableau(II): Distribution géographique naturelle d'*Arthrospira platensis*

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

(Vidal, 2008)

II.5. Systématique

En 1962, **Stanier et al.**, Constataient que cette algue bleue-verte était dépourvue de compartiments cellulaires et donc faisait partie des procaryotes, ils proposaient de désigner ce micro-organisme « cyanobactérie ».

Cette désignation est acceptée et figurée pour la première fois au « Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology en 1974 » (**Durand et Toulemont, 2008**). Le tableau (III) suivant montre la classification de la spiruline.

Tableau (III): Classification de la spiruline (*Arthrospira platensis*)

Règne	Monera
Sous-règne	Procaryote
Embranchement	Cyanophyta
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Nostocales (oscillatoriales)
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	<i>Arthrospira</i>
Espèce	<i>Arthrospira platensis</i>

(Fox, 1999) II.6.

Composition chimique de la spiruline

La spiruline est assurément le nutriment le plus complet que l'on puisse retrouver dans la nature, que ce soit dans les produits végétaux ou les sources animales.

L'immense potentiel nutritionnel de la spiruline fait l'objet de nombreuses publications depuis les années 1970. L'étude de ses composants alimentaires donne des résultats étonnants.

Le tableau (VI) représente tous les composants de la spiruline en pourcentage.

Tableau(VI): Composition générale d'*Arthrospira platensis* (Léonard ,1968).

Acides gras essentiels (dosage par chromatographie CPG) 8%	Ac. palmitique	29.6%
	Ac.palmitoléique	5.0%
	Ac.stéarique	2.2%
	Ac.oléique	2.7%
	Ac.linoléique	13.7%
	Ac.gamma linoléique	23.6%
	Ac.di homo gamma linoléique	2.8%
	Acides Amines	Isoleucine
Leucine		5.4%
Lysine		2.9%
Méthionine		1.4%
Alanine		4.7%
Arginine		4.3%
Ac. aspartique		6.1%
Cystine		1.6%
Ac. Glutamique		9.1%
Phénylalanine		2.8%
Atheréonine		3.2%
Tryptophane		1.5%
Valine		4.0%
Glycine		3.2%

	Histidine Proline Sérine Tyrosine	1.6% 2.7% 3.2% 3.0%
Minéraux /oligoéléments	Ca Mn P Iode Mg Na K Ge Cu Br Cr Mn Cl Fe Zn Se	0.7% 0.1% 0.8% 0.0% 0.4% 0.09% 140% 0.9% 1.8% 0.09% 0.25% 0.02% 0.01% 0.18% 0.03% 1.9%
Vitamines/100g	Vit A Vit D B1 Vit B3 Vit B9 Vit E Vit pp Vit B5 Beta – carotène Vit C Vit B2 Vit B6 Vit B12 Vit K Vit B8/H Inositol	24000UI 1200UI 0.35mg 1.6mg 0.1mg 1.2mg 1.6mg 10mmg 14mg 0mg 0.40mg 0.8mg 0.29mg 0.2mg 5mmg 6.4mg
Pigments (dosage par spectrophotométrie)	Phycocyanine Chlorophylle Caroténoïdes Dont beta – carotène	>16.5% 1.2% 0.4% 0.18%
Enzymes	Superoxide-dismutase(S O D) Phycocyanine	216000UI >16.5%

Recherche de métaux lourds SAA (par spectrométrie d'absorption atomique) Avis CSHPS	Arsenic < 1.0mg/kg Cadmium < 0.3mg/kg Mercure <0.05mg/kg Plomb < 3.0mg/kg Étain < 5.0mg/kg	<3.0mg/kg <0.5mg/kg <0.1mg/kg <5.0mg/kg <5.0mg/kg
--	--	---

(Vidal, 2008)

II.6.1. Protéines et acides aminés

La teneur en protéines d'*Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) est élevée. Elle représente 60% à 70% de sa matière sèche (Fox, 1999), nettement supérieur à celle du soja. Elle possède la plupart des acides aminés dont les acides aminés essentiels.

II.6.2. Acides gras

La composition en lipides totaux se caractérise par un bon équilibre entre acides gras saturés et acides gras polyinsaturés, la spiruline est riche en acide gras polyinsaturés des séries $\omega 3$ et $\omega 6$ (Pierlovisi, 2007), qui préviendraient l'accumulation de cholestérol dans l'organisme.

L'acide gamma-linolénique constitue jusqu'à 40% des acides gras de la spiruline, qui figure parmi les meilleures sources connues d'acide gamma-linolénique (Cohen et al., 2003). Cette présence mérite d'être soulignée du fait de sa rareté dans les aliments courants et que c'est un précurseur de médiateurs chimiques des réactions inflammatoires et immunitaires (Falquet et Hurmi, 2006).

II.6.3. Sels minéraux et oligo-éléments

Les minéraux entrent dans la composition intime de tous les tissus du corps. Ils se trouvent en quantités considérables dans certaines structures telles que les os, les dents, les ongles et, pour une moindre part, dans les muscles, le sang, etc (Falquet et Hurmi, 2006).

Quant aux oligoéléments, malgré leur faible dosage, ils sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Parmi les minéraux contenus chez *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) les plus intéressants à étudier sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium.

II.6.4. Vitamines

Les vitamines « les amines de la vie » sont des composés organiques indispensables à la vie qui agissent à de très faibles quantités pour le développement, l'entretien et le fonctionnement de l'organisme. Exception faite de la vitamine D élaborée au niveau de la peau sous les effets des rayons ultraviolets solaires, le corps est incapable de les synthétiser.

Leur rôle préventif contre certains risques de maladies, comme le cancer, les perturbations de l'immunité, la cataracte, les pathologies osseuses, les malformations fœtales, les maladies cardio-vasculaires, n'est reconnu que depuis les années 1980 (**Vidal, 2008**).

II.6.5. Pigments

Le système pigmentaire présent est constitué de chlorophylle *a*, mais aussi de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleue (Phycocyanine), et de caroténoïdes (β -carotène, cryptoxanthine) et autres (**Pierlovisi, 2007**).

La Phycocyanine c'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**).

Ce pigment a été utilisé comme colorant dans des boissons de santé, confiserie et les cosmétiques. De petites quantités sont également utilisées comme traceurs biochimiques dans des dosages immunologiques en raison de ses propriétés de fluorescence.

D'après **Vidal(2008)** d'exemples, trois cuillers à soupe de spiruline contiennent autant de :

- Protéines que 500 gr de steak.
- Calcium que trois verres de lait.
- Fer que trois bols d'épinards.
- Beta-carotène que dix-huit carottes.
- Vitamines B12 que 500gr de steak.
- Vitamine E que trois cuillers à soupe de germe de blé cru.
- Potassium que trois bols de riz
- Acide gamma-linoléique que le lait maternel ou trois capsules d huiles d'onagre.

II.7. Utilité d'*Arthrospira platensis* (Léonard ,1968)

Selon Charpy (2008), la spiruline est utilisée :

- ❖ Pour la santé, comme alimentation équilibrée, et pour renforcer le système immunitaire,
- ❖ Dans l'agroalimentaire, comme colorant naturel dans les chewing gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées ?
- ❖ En cosmétique dans les masques cryogéniques et crèmes anti-âge, par son action sur le renouvellement cellulaire et la tonicité des tissus,
- ❖ A usage animal, comme complément nutritionnel en aquariophilie, en aquaculture pour favoriser la croissance et la fertilité, et augmenter les performances des animaux.

Les informations résumées ont été extraites des travaux de thèse de doctorat en pharmacie d'Audrey Manet ,(2016) « La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires, et conseil à l'officine » soutenue à Grenoble.

Il existe un nombre important d'études effectuées in vitro, et in vivo chez l'animal et confirmés par des études in vivo chez l'homme sur les différentes propriétés de la spiruline. Ces actions pharmacologiques sont regroupées dans le tableau(V) suivant :

Tableau (V) :Récapitulatif du potentiel thérapeutique de la spiruline : études in vitro et in vivo chez l'animal et l'homme (Manet, 2016).

Applications / Pathologies	Mode d'action/ Action pharmacologique
Dyslipidémies Amélioration profil lipidique	:↓CT ↓LDL ↑ HDL
Hyperglycémie et syndrome pré diabète	Effet hypoglycémiant mitigé suivant les études ↓ hémoglobine glyquée, ↓ glycémie pas toujours significatif
Malnutrition	↑ Poids ↑IMC ↑protéinurie ↑albuminémie
Anémie	ferriprive ↑ Taux d'hémoglobine ↑Ferritine ↑ Volume glomérulaire moyen ↑Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine
Cancer	Antioxydant Anti inflammatoire : Inhibiteurs de la COX-2 Stimulant immunitaire

Déficience système immunitaire	Stimulant du système immunitaire inné Stimulant de la lignée myéloïde
Hyperactivité	Amélioration du comportement et des capacités d'apprentissage
Hypertension	Effet hypotenseur mitigé : ↓ pression artérielle (pas toujours significative)
Stress	oxydatif Antioxydant : ↓ MDA, ↑ SOD, ↑ Adiponectine
Sport	Composition riche, Antioxydant, Inhibiteurs de la Cox-2
Pathologies virales	Action antivirale mitigée : VIH / Hépatite C VIH : ↑LT CD4 +, ↓Charge virale, ↓infections opportunistes
Allergies	Antioxydant, anti-inflammatoire Antiallergique rhinite allergique : ↓IgE, ↓Histamine
Accumulation de métaux lourds	↓ Inflammation du foie ↑Élimination de toxine
Troubles de la vision	Source de zéaxhantine et de vitamine A
Sténose hépatique	↓Taux des transaminases (ASAT et ALAT) Amélioration du profil lipidique Antioxydant, Anti-inflammatoire
Fatigue	Composition riche

(Manet, 2016).

CT : Cholestérol Total ; LDL : Low Density lipoproteins, ; HDL: High density lipoproteins, IMC : Indice de Masse Corporelle ; COX-2 : Cyclooxygénase 2; MDA: Malondialdéhyde ;

SOD: Super Oxyde Dismutase ; VIH: Virus de l'Immunodéficience

Humaine ; LT CD4+ : Lymphocytes T CD4 ; IgE : Immunoglobuline E ; ASAT : Aspartate Amino Transférase, ALAT : ALanine Amino Transférase.

II.8.Intérêts alimentaires et biotechnologiques d'*Arthrospira platensis*

II.8.1. Aspects alimentaires

De par sa composition, *Arthrospira* nous offre plusieurs propriétés bénéfiques et nombreuses filières d'applications représentées comme suit :

Le genre *Arthrospira* est connu pour sa richesse en protéines mentionnées précédemment. Ces protéines ont en plus l'avantage d'être facilement assimilable par l'organisme, ce qui évite l'emploi de la cuisson qui altère les nutriments et les vitamines..

L'efficacité protéique (PER) d'un aliment est déterminée par le rapport « Gain de poids de l'animal ou de l'individu / poids de protéines ingérées ». La protéine de référence est souvent le lactalbumine ou bien la caséine, laquelle présente un PER de 2.5; *Arthrospira* seule, au cours des expériences menées sur le rat, a un PER de 1.90, tandis qu'accompagné de riz dans une proportion égale, cette valeur s'élève à 2.40 (**Anusuya et al., 1983**). De plus, elle figure aussi parmi les meilleures sources d'acide gras essentiel, ces acides sont des précurseurs des prostaglandines qui jouent le rôle de médiateurs chimiques dans les réactions inflammatoires et immunitaires. Cependant, *Arthrospira* a été recommandée comme supplément alimentaire en cas de carence en acides gras essentiels (**Hudson et al., 1974**).

Des études cliniques ont également démontré l'excellente utilisation des caroténoïdes d'*Arthrospira* chez l'homme (**Annapurna et al.,1991**). De très faibles doses d'*Arthrospira* suffisent à réduire considérablement les risques de cécité et d'atteintes neurologiques consécutives à la déficience en vitamine A chez l'enfant. Du fait du nombre croissant d'indices suggérant une série d'effets anticancéreux des caroténoïdes, divers extraits de spiruline ont été testés dans ce cadre (**Schwartz et Shklar, 1988**).

Parmi les éléments minéraux contenus dans *Arthrospira*, le fer est sans doute le plus intéressant, en effet la biodisponibilité du fer a été démontrée tant chez le rat que chez l'homme (**Johnson et al., 1986**).

II.8.2. Aspects thérapeutiques

Pour éliminer les radicaux libres dans l'organisme qui peuvent être à l'origine du cancer, notre organisme a besoin d'apports en vitamines anti-oxydantes, caroténoïdes et autres micronutriments. Le β carotène, présent en quantité très importante dans *Arthrospira*, est l'un des principaux caroténoïdes impliqués dans ce système de défense de l'organisme (**Fedkovic et al., 1993**).

En 1996, des chercheurs japonais découvrent et baptisent un extrait aqueux de spiruline particulièrement riche en calcium et en soufre, «le Calcium-spirulan» qui empêche la pénétration de la membrane cellulaire par certains virus comme le VIH-1, le Herpes Simplex, le virus de la grippe de type A et le virus de la rougeole. La Phycocyanine est aussi connue pour son effet immunostimulant et elle est aussi utilisée en imagerie médicale comme traceur fluorescent. Il a été aussi prouvé que *Arthrospira* agit comme hypotenseur parce qu'elle contient de l'acide γ -linoléique (**Sall et al., 1999**).

II.8.3. Aspects toxicologiques

Arthrospira destinée à l'alimentation humaine est autorisée à la vente depuis de nombreuses années dans les pays industrialisés. Elle est classée GRAS (Generally Recognized As Safe) par la Food and Drug Administration aux Etats-Unis (**Falquet, 2006**).

La conservation des préparations de spiruline séchée (*Arthrospira*) ne semble poser aucun problème puisque ce produit paraît tout à fait résistant aux moisissures. Ainsi aucune détection d'*Aspergillus flavus* ni d'aflatoxine (sécritée par ce dernier) dans des lots de spiruline (**Jacquet, 1975**).

II.8.4. Aspects biotechnologiques

Les propriétés nutritionnelles d'*Arthrospira* en font une source alimentaire qui mérite une attention particulière dans les pays en développement où se pose avec acuité un problème de disponibilités alimentaires et malnutrition. C'est pourquoi il est souhaitable de développer sa production aussi bien à l'échelle domestique pour la consommation familiale qu'au niveau des lacs et étangs. Le développement de la production de spiruline devra s'accompagner de la mise au point des systèmes de culture assurant une meilleure production (**Sall et al., 1999**).

Le présent travail porte sur les formes d'adaptation de deux souches de spirulines (la droite et la spirale) ensemencées dans différents milieux de cultures (milieu : Zarrouk, Hiri, Messaouden et l'eau de mer)

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de deux structures scientifiques durant 4 mois :

- Le laboratoire de Mr Messaouden à Didouche Mourad (Alger) pour ensemencer et suivre la croissance de la spiruline (1 mois).
- Centre de Recherche scientifique et technique en Analyses Physico-Chimiques (CRAPC) à Bou Ismail pour l'analyse des pigments (Phycocyanine et chlorophylle « a+b »), des métabolites primaire (lipides) et secondaires (les polyphénols)(3mois).

III.1. Matériel :

III.1.2. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé est l'algue bleue verte *Arthrospira platensis* (Léonard, 1968). première souche droite de spiruline, nous a été aimablement fournie en culture dans un flacon de deux litres sous forme de solution (liquide) par Mr HIRI Abdelkader à Tamanrasset (spiruline du Hoggar) et la deuxième souche spirale par Mr Messaouden Hakim (chaiba – Tipaza). **fig (7)** montre la spiruline sous forme liquide et sèche.



Fig (7) : La spiruline sous forme liquide et sèche (originale2019)

- L'identification de l'espèce a été faite au niveau du (CRAPC) à Bousmail (Tipaza).
- La spiruline a été cultivée artisanalement dans le laboratoire de Ms Messaouden à Didouche Mourad (Alger) jusqu'à l'obtention d'un produit fini (poudre sèche de spiruline).

III.2.2 Matériel non biologique

Il regroupe l'ensemble des milieux de cultures (Milieu Zarrouk, milieu a base d'eau de mer, milieu Hiri, milieu Messaouden) et leurs compositions, les appareillages, les réactifs et verrerie (**annexe II**).

III.2.Méthodes

III.2.1. Conditions essentielles de culture

Le tableau (VI) représente les deux souches de spiruline droite et spiraleensemencées dans différents milieux de culture(**annexe II**).

Tableau (VI) : Différents milieux de culture

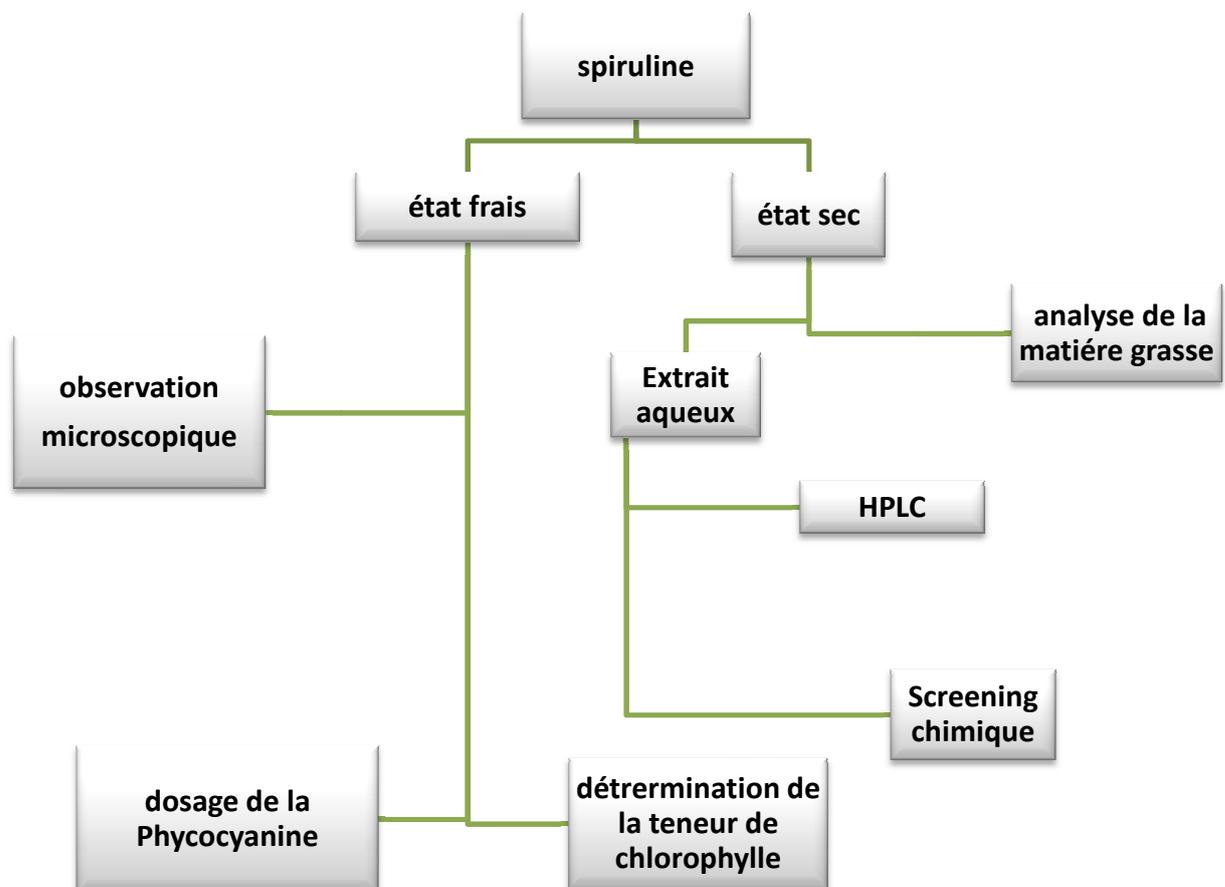
Milieu Messaouden	M1 : souche droite
	M3 : souche spirale
Milieu a base d'eau de mer	M2 : souche droite
	M4 : souche spirale
Milieu Hiri	M5 : souche spirale
	M6 : souche droite
Milieu Zarrouk	M7 : souche spirale
	M8 : souche droite
Milieu témoin	M9 : souche droite
Milieu témoin	M10: souche spirale

fig (8) représente la culture de la spiruline dans différents milieux de cultures testes



Fig(8) : Culture de la spiruline

fig (9) montre le schéma descriptif du protocole expérimental et les différents analyses effectuées sur les souches de la spiruline



Fig(9) : Schéma générale du protocole expérimental.

Les milieux sont constitués d'eau distillée et de sels minéraux et répondent aux conditions suivantes :

***pH** : le pH est entre 8.5 et 10.5 naturellement. la spiruline a tendance à alcaliniser le milieu **(Danesi et al, 2004)**.

***Agitation** : une agitation mécanique est assurée à l'aide d'une pompe à air toute la journée avec des coupures de 20 minutes de temps en temps.

***Eclairage** : une intensité lumineuse ambiante est indispensable à la culture, elle est fournie par une lampe de 75W.

***Température** : la température d'incubation est comprise entre 30 et 40°C, et est assurée par un chauffage électrique d'aquarium.

III.2.2. Ensemencement

Nous avons suivi la méthode appliquée par le CRAPC :

- Mettre 20 ml de chaque milieu de culture dans des bouteilles.
- Ensemencer les différentes bouteilles avec 200ml de l'inoculum de *Arthrospira platensis* **(Léonard, 1968)**.
- NB : Nous avons réalisé tous nos essais en deux répétitions et dans des conditions de stérilité absolue.

III.2.3. Suivi de la croissance

La croissance de la souche *Arthrospira platensis* **(Léonard, 1968)** sur les différents milieux de culture testés a été suivie pendant 30 jours d'incubation, et nous avons vérifié le pH de milieu pour éviter la contamination.

III.2.4. Observations microscopiques des échantillons

L'examen microscopique est indispensable pour l'identification précise des genres et des espèces de cyanobactéries.

L'examen direct des échantillons permet d'apprécier la morphologie des cyanobactéries, leurs groupements, leur abondance, et d'observer leur mobilité (**Rippka, 1988**).

Dans notre étude, l'identification des genres de cyanobactéries est basée sur les caractères morphologiques des cultures pures (**Castenholz et al., 2001**).

Dans le but de chercher les formes droites et spirales de l'*Arthrospira platensis* ; une prélèvement de chaque milieu de culture a été effectuée et observé au microscope optique entre une lame et une lamelle avec un objectif G100x10

III.2.5. Séchage

Une fois que la culture est devenue concentrée on peut réaliser une multiplication de la culture par repiquage dans un milieu de culture neuf (3v de milieu / 1v de culture) jusqu'à qu'à avoir une quantité suffisante de culture. **Fig(10)**



Fig(10) : Multiplication des cultures

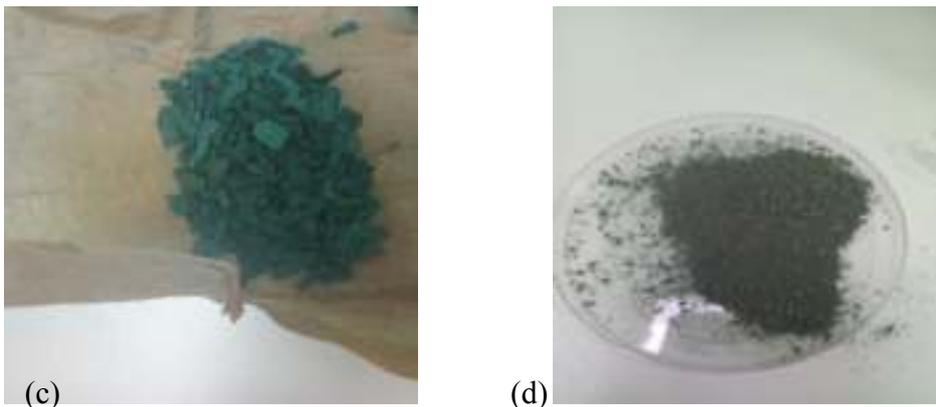
Lorsque la culture devient très concentrée, Secchi inférieure ou égale à 3cm, on peut récolter spiruline fraîche. **fig (11)** présente la méthode de la filtration de la spiruline pour obtenir une spiruline fraîche



(a) : Filtration de la culture d'*Arthrospira platensis* (Léonard ,1968).(b) : Biomasse fraîche.

Fig(11) : Filtration de la spiruline (originale 2019)

Après cette opération, le séchage est réalisé à l'air libre pendant 24h, puis on doit transformer l'algue en poudre fine.la figure(12) montre la spiruline sous forme sèche et en poudre



(c) : Spiruline sèche

(d): Biomasse sèche transformée en poudre

Fig(12) : Spiruline sous forme sèche

III.3 Analyse et dosage de la production de Phycocyanine

Les étapes nécessaires pour mettre en évidence la présence de Phycocyanine dans chaque culture d'*Arthrospira platensis* (Léonard, 1968) :

- Prendre 200 ml de l'échantillon et mettre dans dix tubes en verre.
- Centrifuger 200 ml de chaque culture à 3000 rpm pendant 5 minutes et jeter le surnageant.

- Regrouper l'ensemble des tubes dans un seul tube en verre, en utilisant les solutions tampon 10 ml à pH=7(**annexe II**).
- Peser chaque tube en poids posé,
- Transvaser le contenu du tube en verre dans les tubes en poids posé,
- homogénéiser la solution au vortex,
- Centrifuger et jeter le surnageant,
- Peser le tube en poids posé,
- Ajouter 10ml de solution tampon à pH =7 et utiliser le vortex.
- Congeler à (-20C°) puis décongeler à (4C°) de manière répétitive, l'opération de congélation et décongélation dure 4h.
- Dans l'étape de décongélation, récupérer le surnageant après centrifugation.
- Analyser le taux de pureté de la Phycocyanine,
- Les différents surnageant sont par la suite utilisés pour l'estimation des taux de pureté de la Phycocyanine extraite de chaque culture en calculant chaque fois le rapport : A620/A280 par spectrophotomètre (**Doke, 2005 ; Lamela et Marquez, 2000**).
- Calculer la concentration totale de la Phycocyanine (PC) présente dans chaque surnageant selon l'équation suivante(**Lamela et Marquez, 2000**):

$$PC = (DO615 - (0.0474 * (DO652))) / 5.34$$

- Calculer la masse de la spiruline

$$Mi = ((\text{masse finale} - \text{masse initial}) / \text{masse final}) * 100$$

III.4 Analyse de la chlorophylle « a+b »

Pour l'analyse de la chlorophylle « a+b », nous avons suivi la méthode préconisée de **Metdji (2018)**

- Centrifuger 1ml de chaque culture différente à 300tr pendant 10 min puis éliminer le surnageant,
- Ajouter 1ml de méthanol, mettre 1 bille en verre dans chaque tube contenant un milieu de culture différent,
- Vortexer pendant 5min tous les tubes pour mélanger l'échantillon,
- Centrifuger à 300 tr pendant 10 min après récupérer le surnageant,

- Après extraction selon la méthode décrite ; la concentration en chlorophylle est déterminé par mesure de son absorbance à deux longueur d'onde $\lambda = 648 \text{ nm}$ et $\lambda = 664 \text{ nm}$.
 - La concentration en chlorophylle (a+b) a été déterminée avec la formule suivante :
 - Chlorophyll (a+b) ($\mu\text{g/mL}$) = $(5,24 * A_{664}) + (22,4 * A_{648})$ [26]
- Avec:
- A_{664} : l'absorbance de la culture mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 648\text{nm}$
- A_{648} : l'absorbance de la culture mesurée à une longueur d'onde $\lambda = 664\text{nm}$

II.5. Détermination du taux de matières grasses

La détermination des matières grasses a été faite selon la méthode d'extraction au soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant à reflux (Aocs, 1990).

- **Mode opératoire**
 - Introduire 4 grammes d'échantillon dans une cartouche d'extraction,
 - fermer la cartouche avec du coton et placer dans le soxhlet,
 - Introduire 300 millilitres d'hexane dans un ballon d'ébullition contenant des pierres ponce et préalablement pesé,
 - Monter le soxhlet et le chauffe ballon à ébullition du solvant,
Un système de réfrigération permet de condenser les vapeurs du solvant destinées à entraîner les lipides. Les matières grasses sont extraites pendant 4heures et recueillies dans le solvant qui est ensuite évaporé au Rotavapor (évaporateur rotatif) puis à l'étuve.
 - Refroidir le ballon contenant la matière grasse pendant 30 minutes au dessiccateur et pesé. (Aocs, 1990).
- **Expression des résultats**

$$\text{Taux de matières grasses (\%)} = (\text{PF} - \text{PO} / \text{PE}) * 100$$

PE : Prise d'essai (4)

PO : Poids du ballon vide

PF : Poids du ballon contenant la matière grasse

III.6.Méthodes d'extraction pour le criblage chimique et la caractérisation par HPLC

III.6.1. Préparation de l'extrait aqueux (EA)

Pour obtenir un extrait aqueux brut de *Arthrospira platensis* (Léonard ,1968), on effectue une extraction par macération à froid en mettant la matière végétale séchée en contact avec de l'eau distillée à raison de 2g/100ml d'eau distillée pendant 24 heures. L'EA qui a été préparée, c'est pour l'utilisation dans l'analyses d'HPLC et pour le screening chimique (identification les composés de la spiruline).

(fig. 13) présente l'EA qui a été filtré à l'aide d'un papier filtre :

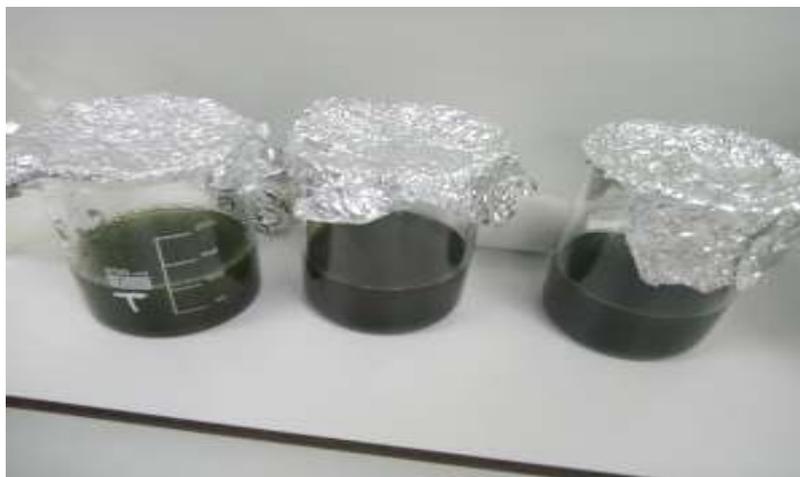


fig.(13) : Extrait aqueux brut d'*Arthrospira platensis* (Léonard ,1968)

III.6.2 Analyse qualitative par HPLC

But : déterminer les compositions chimique de la spiruline (les vitamines, les pigments, les acides aminées).

Principe :

La chromatographie en phase liquide à haute performance est une méthode d'analyse qui permet de séparer les différents constituants d'un mélange par entraînement d'une phase mobile liquide le long d'une phase stationnaire solide (Francis et al.,2004) La caractérisation de plusieurs composés des extraits aqueux de la spiruline a été réalisée par un système HPLC (SHIMADZU), équipé avec un réservoir à solvant contenant la phase mobile, un dégazeur (DGU-12A), un détecteur

UV visible (SPD-10A VP), une vanne électromagnétique (FCV-10 AL VP), une pompe à piston (LC10-AD VP), un four (CTO-10A) et un contrôleur (SCL-10A VP) avec un logiciel de classe VP (version 5.4) (**Fig/annexe II**).

- **Conditions opératoires**

- | | |
|---------------------------------------|------------------------------|
| -Colonne : C18 (WATERS) | -Pression : 5.4MPa |
| -Débit de transfert : 1ml /min | -Diamètre : 5 µm |
| - Température : 35°C | - Dimension : 150mm x 4,6 mm |
| -Longueur d'onde : UV vis 254nm 280nm | -Quantité injectée : 20 µl |

- **Mode opératoire**

Nous avons suivie la méthode appliquée par le CRAPC :

- Préparer l'extrait aqueux,
- Filtrer l'extrait avec un micro-filtre (0.45 µm) puis mettre le ensuite dans l'ultra-son,
- Préparer la phase mobile qui est constituée d'un mélange H₂O 1% acide Acétique /MeOH filtrer et mettre le mélange dans l'ultra-son,
- Injecter l'extrait à analyser avec une seringue appropriée de 20µl.
- Attendre l'apparition des pics sur l'écran en fonction des temps de rétention de chaque composé,
- L'identification de la composition de notre extrait a été faite par comparaison des temps de rétention avec ceux des standards enregistrés dans la banque de données de l'HPLC de CRAPC.

III.6.3. identification des métabolites I^{air} et II^{air} par Screening chimique

La phytochimie qualitative est basée sur des réactions colorimétriques ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, réalisées sur les extraits reconstitués à partir de la poudre lyophilisée de chaque échantillon, pour une première estimation des données préliminaires sur les constituants des extraits. (**Bougandoura, 2010**).

But : pour vérifier quelques composés chimiques dans les extraits préparés, une analyse phytochimique a été réalisée en utilisant des réactifs spécifique (**Karumi et al., 2004 ; Benariba et al., 2013**).

III.6.3.1. Détection des poly phénols

- **Test des tanins**

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml de l'extrait placé dans un tube en présence de 0.05g de FeCl_3 .

Après agitation de l'extrait, la couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Vijayakumari et al., 2013**).

- **Test des coumarines**

Les coumarines sont révélées à partir de 2 ml d'extrait placé dans un tube, on y ajoute 3 ml de KOH (10%), après agitation de l'extrait, la formation d'une couleur jaune indique la présence de coumarines (**Seladji, 2013**).

- **Test des anthocyanes**

Les anthocyanes sont détectés en plaçant 5ml d'extrait dans un tube auquel on ajoute 15 ml d' H_2SO_4 à (10%) (Milieu acide), après agitation, le mélange est ajouté à 5ml NH_4OH à (10%) (Milieu basique). La présence des anthocyanes est affirmée par une coloration bleu violacée en milieu basique (**Savithramma, 2011**).

- **Test des flavonoïdes**

Un mélange de quelques gouttes de Mg^{2+} et de quelques gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2ml d'extrait .L'apparition de la coloration rose, orangé ou rouge indique la présence des flavonoïdes (**Vijayakumari et al., 2013**).

- **Test des anthraquinones**

Pour la détection des anthraquinones, 10ml d'extrait sont ajoutés à 5ml de NH_4OH à (10%). Après agitation pendant quelques minutes, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones (**Samejo et al., 2013**).

- **Test des saponosides**

Pour la détection des saponosides ,10ml d'extrait placé dans un tube à essais sont agités pendant 15 secondes puis déposées durant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm, indique la présence de saponosides (**Belguidoum, 2012**).

III.6.3.2. Tests des terpènes

- **Test des stérols et tri terpènes**

Les stéroïdes sont révélées après addition de 5ml d'anhydride acétique à 5ml d'extrait à chaud. Le mélange est ajouté à 0.5 ml d'acide sulfurique concentré .Après agitation, l'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis vert, indique une réaction positive (**Belguidoum, 2012**).

- **Test des alcaloïdes**

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner .10ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0.2ml, sur lequel 1.5ml de HCl à (2%) sont ajoutés .Après agitation de la solution acide ,1 à 2 gouttes de réactifs Mayer ou Wagner sont ajoutés. L'apparition d'un précipité blanc-jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes (**Seladji, 2013**).

III.6.3.3Métabolites primaires

- **Test de protéine**

À 2 ml de l'extrait aqueux sont ajoutés 5 à 6 gouttes NaOH à 5%, après agitation, on ajoute 5 à 7 gouttes de CuSo₄.L'apparition de couleur violet indique la présence de protéine (**Samejo et al ., 2013**).

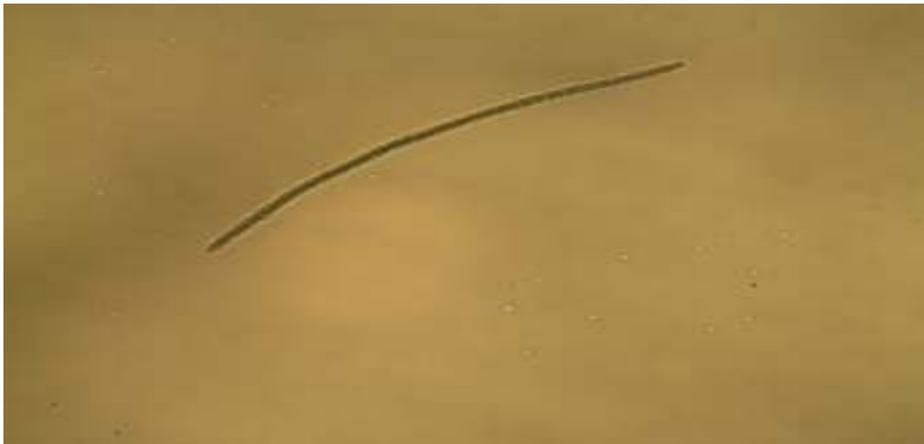
- **Test de sucre réducteur**

À 2 ml de l'extrait aqueux sont ajoutés 2ml d'une solution de Fehling (A+B) placé dans un tube porté à ébullition .L'apparition d'un précipité rouge indique la présence du sucre réducteur (**Belguidoum, 2012**).

IV.1. Identification de la souche de la spiruline étudiée

L'identification de l'espèce a été faite le 1/04/2019 au niveau du CRAPC à Bousmail (Tipaza). Par observation sous microscope optique de la souche de spiruline au grossissement (Gr100x10)

Fig.(16)et(17)



Fig(16) : Observation sous microscope de la souche droite de spiruline Gr100x10



Fig(17) : Observation sous microscope de la souche spirale de spiruline Gr100x10

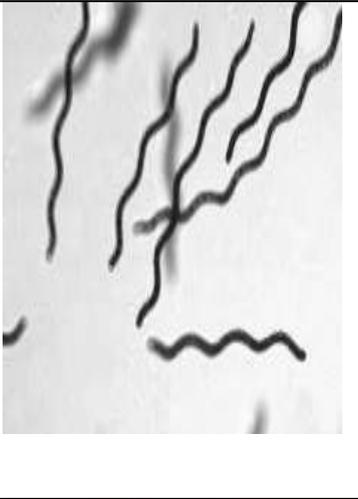
Ces observations nous confirment qu'en effet les milieux de culture témoins (Hiri et Messaouden) contiennent les formes droite et spirale.

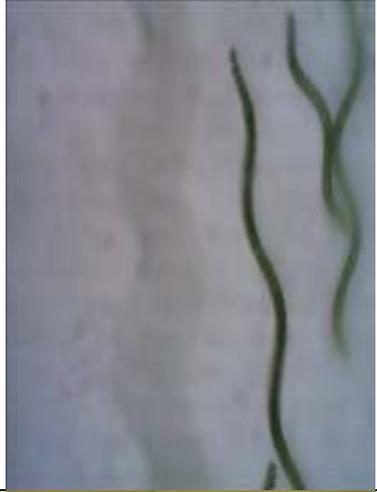
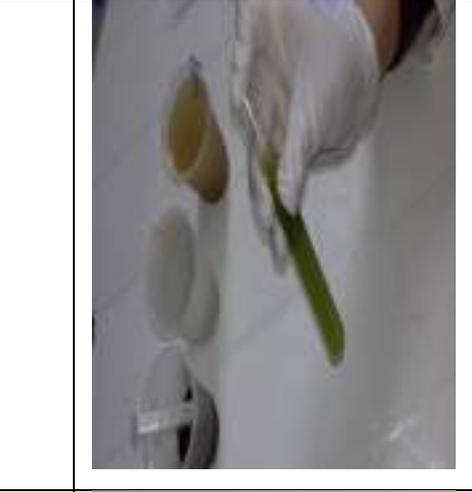
IV.2. Etude morphologique des échantillons

Le tableau(VII) regroupe les résultats de l'observation microscopique et macroscopique des deux souches étudiées dans différents milieux de culture.

Tableau(VII) : Résultats de l'observation microscopique et macroscopique

Milieu de culture	observation microscopique	figure	Caractères morphologiques
M1			<p>Couleur : vert - foncé</p> <p>Filaments : nombreux</p>
M2			<p>Couleur : vert-clair</p> <p>Filaments : nombre moyen</p>

M3			<p>Couleur : vert-foncé</p> <p>Filaments : nombreux</p>
M4			<p>Couleur : vert-clair</p> <p>Filaments : nombre moyen</p>
M5			<p>Couleur : vert-foncé</p> <p>Filaments : nombreux</p>
M6			<p>Couleur : vert-foncé</p> <p>Filaments : nombreux</p>

M7			Couleur : vert-clair Filaments : nombre moyen
M8			Couleur : jaune Filaments : rare

D'après les résultats consignés dans de tableau(VIII) on remarque que chez les deux souches de spiruline, le nombre de filaments observés sous microscope optique et la couleur des échantillons observés à l'œil nu varie selon chaque milieu de culture. En effet ,les deux milieux Hiri et Messaouden présentent un nombre maximal des filaments et une couleur vert-foncé ,cela est due de la présence d'une densité importante des filaments ,par contre les deux autres milieux présentent un nombre moyen de filaments et une couleur vert-clair. Des recherches dans plusieurs pays ont même montré que la Spiruline pouvait se développer en milieu marin (Faucher et *al.*, 1979 ; Tredici et *al.*, 1986) ; (Vonshak et *al.*, 1988 ; Clement et Rebeller, 1974 ; Wu et *al.*, 1993).

IV.3.Composition d'*Arthrospira platensis* en divers pigments

IV.2.1. La Phycocyanine

Les résultats de l'extraction et l'estimation de la masse, la pureté et la

Milieux de culture	DO à $\lambda=280$	DO à $\lambda=615$	DO à $\lambda=620$	DO à $\lambda=652$	% masse d'algue	Taux de pureté	CONCENTRATION
M1	3.2950	0.0659	0.0660	0.0639	1.3	0.0205	0.011773
M2	3.3164	0.0750	0.0751	0.0714	1.3	0.0225	0.007707
M3	3.2847	0.1193	0.1191	0.1187	1.3	0.0363	0.021287
M4	3.2026	0.0599	0.0599	0.0605	1.5	0.0187	0.010580

concentration de Phycocyanine à partir de chaque culture d'*Arthrospira platensis*, sont présentés dans le tableau (VIII)

Tableau (VIII): Estimation de la masse de spiruline, la concentration et le taux de pureté de la concentration en Phycocyanine

M5	3.2806	0.1188	0.1188	0.1200	2.5	0.0362	0.021182
M6	3.2277	0.0506	0.0505	0.0495	2.3	0.0155	0.009036
M7	3.3072	0.1212	0.1213	0.1224	2.4	0.0367	0.021510
M8	3.1928	0.0405	0.0405	0.0403	0.6	0.0127	0.007226
M9	3.2103	0.0487	0.0487	0.0460	2.2	0.0156	0.008711
M10	3.2807	0.1126	0.1123	0.1115	1.6	0.0342	0.020596

D'après les résultats du tableau(VIII), nous remarquons que les pourcentages de la masse d'algue (2.5 , 2.3 , 2.4) sont les plus élevés dans le milieu Hiri (M5 ,M6) et le milieu Zarrouk (M7)(respectivement) , comparativement avec les autres milieux.

En effet, les composition des milieux Hiri et Zarrouk sont les plus favorable pour la production de spiruline.

La concentration en Phycocyanine ,est plus élève dans le milieu Messaouden (M3), le milieu Zarrouk(M7) et le milieu Hiri(M5) avec des valeurs de (0.0212 , 0.0215 , 0.0211)respectivement .

-Concernant la pureté de la Phycocyanine, les résultats sont identiques à ceux de la concentration en Phycocyanine.

Ces résultats confirment que la concentration en Phycocyanine est influencée par la composition du milieu de culture (**Lamela et Marquez, 2000**). La Phycocyanine présente environ 30% de la biomasse, mais sa concentration dans les cellules dépend des conditions de croissance (**Lamela et Marquez, 2000**). et le type de souche.

IV.3.2.Dosage de la Chlorophylle (a+b)

Nous avons regroupé les différentes concentrations de la chlorophylle (a+b), extraite à partir de différentes biomasses (**tableau IX**)

Tableau (IX) Concentration de la chlorophylle (a+b) selon la culture de milieu utilise

milieu	DO à $\lambda=648$	DO à $\lambda=664$	Concentration de la chlorophylle a+b

M1	0.6921	0.6948	5.191056
M2	0.4795	0.4764	4.750776
M3	0.9086	0.9056	6.780608
M4	0.5048	0.5076	3.790576
M5	0.6030	0.6165	4.58118
M6	0.6354	0.6345	4.750776
M7	0.9139	0.9178	6.856408
M8	0.2827	0.2814	1.954484
M9	0.7373	0.7356	5.506096
M10	0.8990	0.9624	7.056736

D'après les résultats du tableau (IX), nous remarquons que les valeurs de la concentration de la chlorophylle(a+b) (5.19 , 6.78 , 6.85) sont plus élevées dans les milieux Messaouden(M1 et M3) et le milieu Zarrouk(M7) respectivement , comparativement à les autres milieux , cela est due à la présence de pigment de chlorophylle dans la spiruline.

La concentration de la chlorophylle (a+b), est fonction de la concentration en biomasse dans chaque milieu de culture.

Ce constat va dans le même sens que l'étude de **Lamela et Marquez,(2000)**. où ils ont montrés que le taux de croissance est en relation directe avec la quantité de la chlorophylle produite.

Remarque :

Dans tous les résultats précédent, le milieu Zarrouk(M8) présente une très faible adaptation de la spiruline, cela est dû à la présence dans ce milieu d'un autre algue identifiée « la chlorela », cette dernière entre en compétition avec la spiruline pour les nutriments de milieu de culture.

IV.4.Résultats en matières grasses

Les résultats de l'extraction (de la masse) de la matière grasse à partir de chaque

Composés	EXTRAIT
----------	---------

culture d'*Arthrospira platensis*, sont présentés dans le tableau (X)

Tableau (X) : résultat de la masse de la matière grasse dans chaque milieu de culture

	PO	PF	%
M1	173.6	173.8124	5.31
M6	173.6	173.8300	5.75
M9	173.6	173.8400	6.00
M3	173.6	173.8860	7.15
M5	173.6	173.8424	6.06
M10	173.6	173.8900	7.25

D'après le tableau(X), on remarque que le pourcentage de la matière grasse dans le milieu Messaouden (M3) da une valeur de 7.15 et dans le milieu Hiri (M6) une valeur de 5.75 .

Le pourcentage de la matière grasse de la souche spirale est supérieur au pourcentage de la matière grasse de la souche droite, cela est en rapport avec la quantité de lipide contenus dans la spiruline ,qui est variable selon les conditions de chaque milieu. Toutefois, **Bujard et al., (1970)** dans leur travaux rapportent que 5,6 à 7 % du poids sec de spiruline est constitué de lipides.

IV.5. Screening phytochimique des extraits aqueux

Une investigation phytochimique préliminaire a été entreprise et a permis de mettre en évidence divers métabolites (**Tableau XI**)

Tableau (XI) : Résultats du criblage phytochimique.

		1 EXTRAIT (Hiri)	2 EXTRAIT (Messaoud en)	3 EXTRAIT (Zarrouk)	Indicateur (coloration)
Poly phénols	Tanins	+	+	+	Bleu noir
	Coumarines	+	+	+	jaune
	Anthocyanes	-	-	-	-
	Anthraquinones	-	-	-	-
	Saponosides	+	+	+	Précipité blanc
	Flavonoïdes	+	+	+	orange
terpènes	Stérols	+	+	+	Anneau pourpre
	Alcaloïdes	+	+	+	Précipité blanc jaunâtre
Métabolites primaires	Glucosides	-	-	-	-
	Sucre réducteur	-	-	-	-
	Protéines	+	+	+	violet

Test positif : +

test négatif : -

D'après le **tableau(XI)**, on remarque que dans les 3 extraits aqueux, la classe des polyphénols, il y a présence des Tanins, coumarines, saponosides et flavonoïdes et une absence totale (présence à l'état de traces) d'anthocyanes et Anthraquinones.

Dans la classe des terpènes, on a observé la présence de Stérols et Alcaloïdes. Comme Métabolites primaire, on note l'absence totale des Glucides et présence des Protéines.

Anbarasan et al., (2011) ont rapporté la présence des mêmes classes de familles chimiques retrouvées au niveau d'*Arthrospira platensis* (**Léonard, 1968**).

IV.6. Résultats de la caractérisation par HPLC

Les résultats de l'analyse par HPLC des extraits aqueux de la spiruline sont consignés dans le **Tableau(XIII)**

Des témoins standards enregistrés et archivés dans la cellule HPLC du (CRAPC) ont été utilisés pour les besoins de notre analyse HPLC. Leurs temps de rétentions (Tr) sont présentés en (**ANNEX III, tableau XII**)

Tableau(XIII) : Résultats de l'HPLC

compose	Temps	DO 254			DO280		
		M5	M1	M7	M6	M3	M8
α -tocophérol	5,1	5,9	5,37	5,73	5,84	5,12	5,04
β -tocophérol	11,99	11,74	11,73	11,78	11,24	11,82	11,06
β -carotène	26,75	25,62	25,82	25,35	25,74	26,94	25,39
Chlorophylle a	20,82	21,22	20,47	20,47	21,22	20,64	20,11
Chlorophylle b	19,65	20,03	19,63	-	19,65	19,64	-
Hydroxy-flavone	49,55	-	-	49,33	-	-	-
AC. Ascorbique	03,09	03,87	-	03,90	03,57	-	03,64
catéchine	17,50	17,50	17,45	-	17,51	17,42	-
syringine	22,59	22,75	-	-	22,76	-	-
AC.P coumarique	25,21	-	25,28	-	-	-	-
Apigénin	42,53	42,93	-	-	42,36	-	-
coumarine	45,82	-	45,93	-	-	45,57	

D'après le **tableaux (XIII)** L'analyse chromatographique par HPLC a révélé la présence de différents composés dans les trois échantillons (M1, M5, M7) à DO254 : -les deux familles des tocophérols β (11.47, 11.73, 11.78 min) et tocophérols α (5.9, 5.73, 5.73 min), béta carotène ou pro vitamine A (25.62, 25.28, 25.35 min) ainsi que des pigments de chlorophylle a (21.22, 20.47, 20.47 min) et chlorophylle b (20.03, 19.63 min).

-Hydroxy-flavone (49.33min) seulement dans l'échantillon 3 (M7) et ac. Ascorbique (3.87, -, 3.90 min) dans l'échantillon 1 (M5) et 3 (M7), catéchine (17.50, 17.45 min) dans l'échantillon 1 (M5) et 2 (M1), syringine et Apigénin (22.75, 42.93 min) seulement dans l'échantillon 1 (M5), AC. coumarique et coumarine (25.28, 45.65 min) dans l'échantillon 2 (M1) seulement.

À une DO280, nous avons presque les mêmes résultats cités précédemment avec une absence Hydroxy-flavone et ac. coumarique dans les 3 échantillons (M3, M6, M8).

D'après les graphes obtenus (**Fig.18.19.20 ;tableaux.XVI.XV.XVI ;Annexe III**), nous avons constaté que la spiruline est riche en vitamine E. (**Sautier et Tremolieres ,1975**) ont démontré que la vitamine E de la spiruline est retrouvée à des taux comparables à ceux des germes de blé.

Les résultats que nous avons obtenus sont identiques à ceux trouvés par **Schuep et Rettenmaier (1975)**, et on a constaté aussi que la spiruline riche en chlorophylle (a+b), des acides aminées , de la pro vitamine A et syringine (acide folique) .

Conclusion

La spiruline n'a suscité l'intérêt des scientifiques que tardivement, elle jouit aujourd'hui d'un intérêt grandissant grâce à ses multiples propriétés thérapeutiques et nutritionnelles. Ce regain d'intérêt se traduit par les nombreuses études publiées que nous avons consultées pour réaliser notre travail et qui portent sur tout ce qui caractérise la Spiruline. Nous avons décrit les aspects biologiques de la spiruline (morphologique, physiologique et biochimique). Cette description nous a permis de constater l'adaptation exceptionnelle dans des milieux très variés nous avons constaté une bonne croissance d'*Arthrospira platensis* (**Léonard, 1968**) dans les milieux Hiri et Zarrouk, Et l'étude de leur composition en divers pigments et en métabolites primaire et secondaire a montré que :

- La concentration en Phycocyanine est en rapport avec la composition de chaque milieu de culture où le milieu Messaouden et Zarrouk sont les plus favorables.
- La concentration en chlorophylle (a+b), est en fonction de la quantité en biomasse obtenue dans chaque milieu de culture.
- La quantité de lipide contenue dans chaque souche de spiruline est variable selon les conditions de chaque milieu
- Le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques colorimétriques a permis d'identifier les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les protéines, les saponosides et les alcaloïdes.
- La caractérisation de quelques composés de cette cyanobactérie par d'HPLC a permis d'identifier des vitamines indispensables et importantes telles que la β -carotène ou la provitamine A, tocophérol ainsi que la chlorophylle totale.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons déduire que la spiruline s'adapte aux différents milieux de cultures testés, et que son adaptation est en fonction des nutriments de chaque milieu, des conditions de l'environnement et le type de spiruline (souche spirale et souche droite). Des recherches dans plusieurs pays ont même montré que la Spiruline pouvait se développer en milieu marin (**Faucher et al., 1979** ; **Tredici et al., 1986**) ; (**Vonshak et al., 1988** ; **Clement et Rebeller, 1974** ; **Wu et al., 1993**)

Conclusion

Compte tenu de toutes ces données, notre travail reste préliminaire, il paraît d'une grande utilité de poursuivre la présente étude tout en élargissant le champ des expérimentations et d'approfondir les recherches scientifiques et technologiques, dans le futur. Nous envisageons d'entreprendre les différentes activités de recherche suivantes :

- Utilisation de la spiruline cultivée en aquaculture et dans l'alimentation du bétail.
- Utilisation de la spiruline en agriculture "Bio fertilisant" et engrais naturel.
- Culture de spiruline (d'*Arthrospira platensis* (**Léonard,1968**)) dans des bassins à grande échelle.
- Utilisation de différentes substances bioactives de spiruline dans les différentes productions alimentaires et pharmaceutiques.

annexe

Annexe II

II.1. Appareillages :

- Autoclave
- Centrifugeuse
- Etuve
- Microscope optique
- Réfrigérateur
- Spectrophotomètre
- Lampe à UV
- Balance, pH mètre
- Agitateur magnétique.
- Agitateur mécanique d'aquarium.
- Agitateur Vortex.
- Balance de précision.
- Hotte
- Incubateur à 25°C.
- Incubateur à 37°C.
- Ultra-son.

II.2. Verrerie et autres matériels :

II.2.1. Verrerie :

- Pipettes Pasteur stériles, micropipette (1000µl, 10µl), Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml).
- Des bouteilles.
- Tubes à essai.
- Bêchers : 50ml, 1000ml
- Erlenmeyer de 250ml.
- Tubes à hémolyse en plastique.
- Lames, lamelles, filtre en papier, anse de platine, spatule, compresse, pissette.
- papier Absorbant.

- Entonnoirs.
- Eprouvette.
- Fioles.
- Flacons.
- Gants.
- Micro filtre.
- Papiers filtres.
- Sondes de gavage.
- Seringue de 1ml-5ml.

II.2.2 Réactifs et produits chimiques :

- Eau distillée H₂O.
- Hexane
- Éthanol
- **Tampon phosphate saccharose pH 6,5(physiologie végétale)**

Solution tampon utilisée en physiologie végétale pour l'extraction de chloroplastes ou mitochondries (cette solution est à conserver au froid à 4°C) Ce tampon est essentiellement utilisé pour la réaction de Hill ou pour la respiration des mitochondries de cellules végétales. Préparation pour 100 ml de tampon

di-hydrogénophosphate de potassium	1,36 g
di-sodium hydrogénophosphate	7,16 g
chlorure de potassium	0,59 g
saccharose	17,1 g
eau distillée ajuster	à 100 ml

II.3.Les milieux de cultures

II.3.1. Milieu Zarrouk (Feng et *al.*, 2006) :

Composition:

NaHCO ₃	18.0 g
NaNO ₃	2.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g

K ₂ SO ₄	1.0 g
NaCl	1.0 g
CaCl ₂	0.04 g
Na ₂ EDTA	0.08 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.2 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O	0.01 g
Eau distillée	1000 ml
Solution de sels métalliques	1 ml

Préparation :

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 9.5 et stériliser à 120 °C pendant 20 min

II.3.2 Milieu à base d'eau de mer (Charpy, 2004) :

Utilisation de l'eau de mer

L'eau de mer utilisée dans notre travail a été fournie dans un Falcon d'un litre de la région (Birare-Tipaza).

Composition:

K ₂ HPO ₄	0.5 g
NaNO ₃	3g
NaHCO ₃	11g
FeSO ₄	0.01g
Urée	0.2g
Eau de mer	1000ml

Préparation :

Après précipitation de l'eau de mer avec NaHCO₃ pendant 2 heures à 35 °C, L'eau de mer traitée est enrichie avec d'abord NaNO₃, FeSO₄, puis un autre enrichissement avec K₂HPO₄, FeSO₄, urée. Stériliser à 120 °C pendant 20 min.

II.3.3. milieu Hiri

Composition :

(NaHCO ₃)	16g
(K ₂ SO ₄)	0.5 g
(NaCl)	01g
(CaCl ₂)	0.1 g
(NH ₄ H ₂ PO ₄)	0.1g
(MgSO ₄)	0.1 g
(FeSO ₄)	0.01 g
CO(NH ₂) ₂	0.1g
Eau distillée	1000ml

Préparation :

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 9.5 et stériliser à 120 °C pendant 20 min.

II.3.4 milieu Messaouden

Composition :

NaHCO ₃	10g
Sel de table	5g
Chélates de fer dilué	0.05g
NPK (12-12-36)	0.25g
Eau distillée	1000ml

Préparation :

Après dissolution de tous les ingrédients dans l'eau distillée, ajuster le pH à 9.5 et stériliser à 120 °C pendant 20 min.



Microscope



cylindre gradué



balance



vortex



Soxhlet



centrifugeuse



réfrigérateur



rota évapore



Papier filtre



pH mètre



centrifugeuse



agitateur

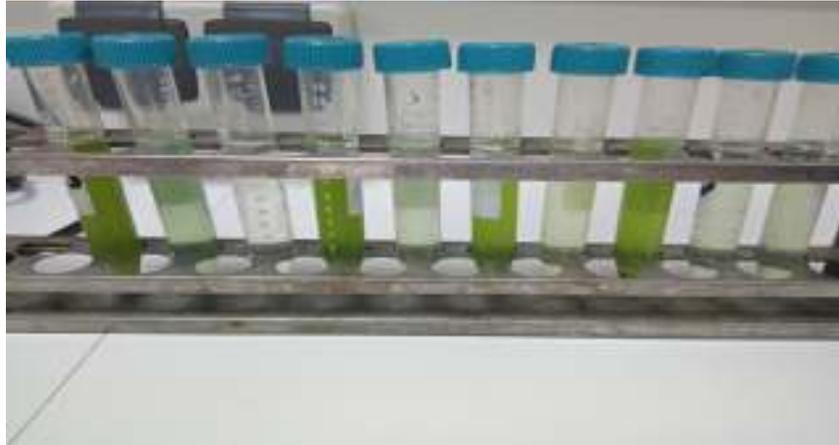
Fig(8) :Les appareils utiliser



Fig(15) :Système d'HPLC utilisé dans l'étude chromatographique.

Annexe III



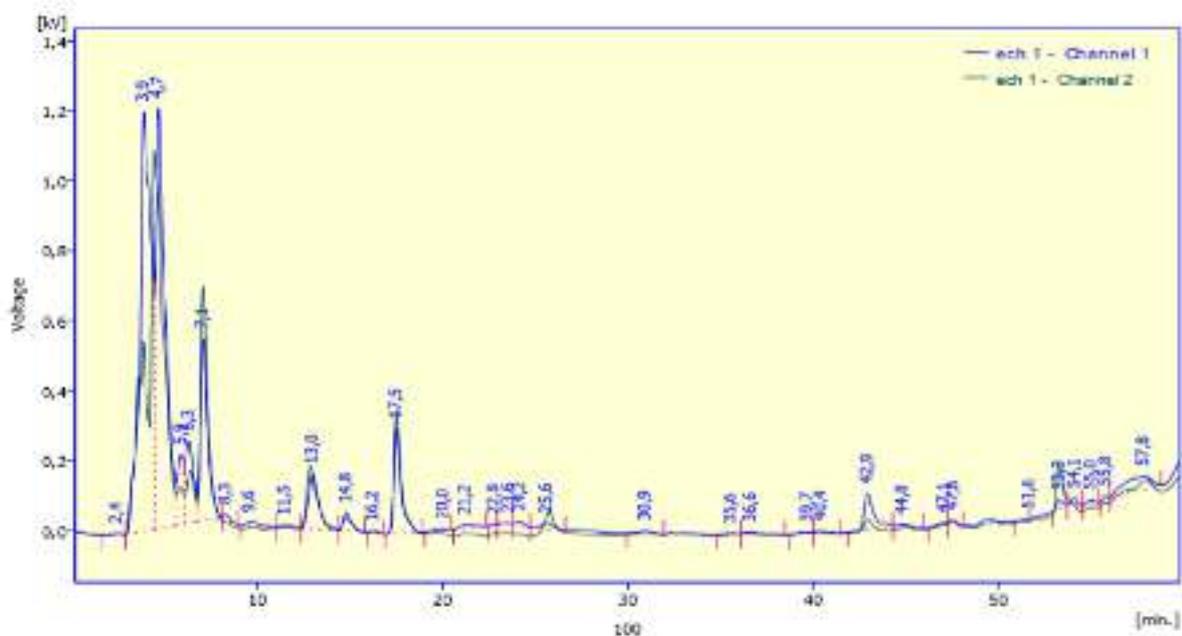


Résultats d'analyse par HPLC

Tableau(XII): temps de rétention des standards utilise dans l'étude chromatographique

Composant	Temps de rétention en min
β -carotène	26.75
α tocophérol	5.1
β tocophérol	11.99
Chlorophylle a	20.82
Chlorophylle b	19.65

Produit analysé :extrait aqueux(M5 ,M6)(DO254 ,DO280)



Fig(18) :Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M5 ,M6)de spiruline.

Tableau(XIV) : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M5)

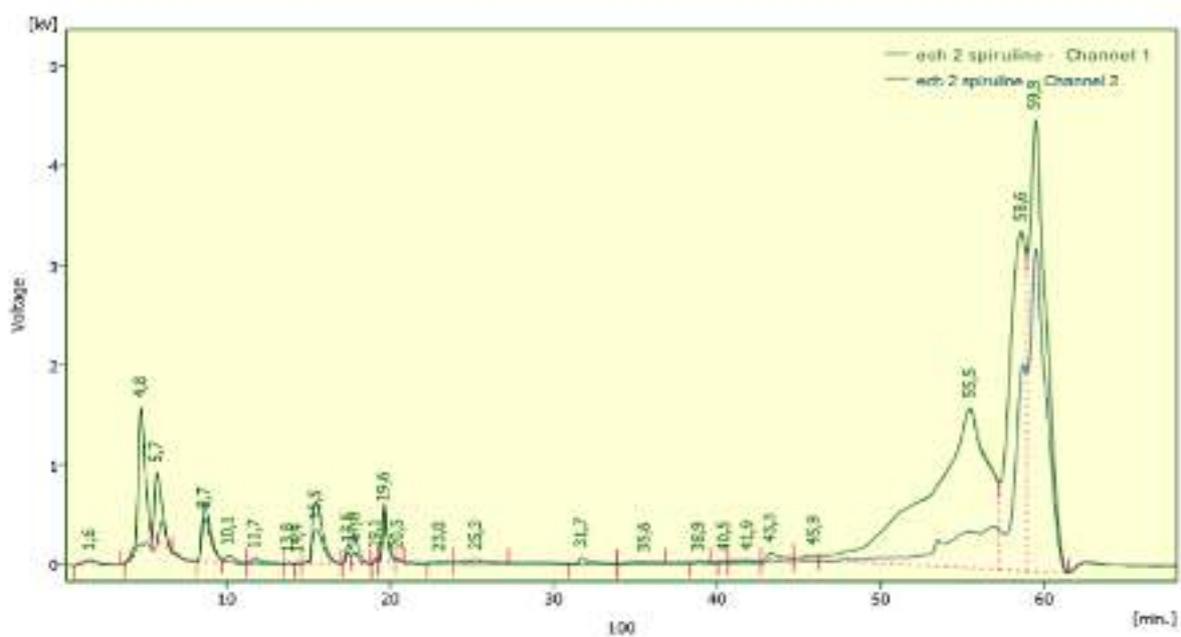
	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	RTI [cp/m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
1	2,403	17,723	0,346	0,1	0,1		1758	0,778	0,000
2	3,870	5219,044	119,932	34,5	26,5		2873	0,862	1,369
3	4,670	4200,643	120,216	27,8	28,5		6788	2,615	0,496
4	5,903	482,761	19,935	3,2	4,7		17730	0,737	1,369
5	6,303	723,858	23,476	4,8	5,6		14038	1,400	0,460
6	7,070	1426,014	52,039	9,4	12,4		34045	1,679	0,935
7	8,283	32,002	1,379	0,2	0,3		58421	1,805	1,944
8	9,570	62,169	2,171	0,4	0,5		17881	2,138	1,377
9	11,470	32,654	0,662	0,2	0,2		22776	1,607	1,443
10	12,967	602,497	25,676	4,0	3,7		54016	1,546	1,294
11	14,803	145,464	5,062	1,0	1,2		125480	1,701	2,129
12	16,237	16,961	0,556	0,1	0,1		115298	1,468	1,825
13	17,503	831,896	30,062	5,5	7,1		247958	1,968	1,711
14	20,037	29,163	0,516	0,2	0,1		68929	0,700	2,548
15	21,220	62,325	1,063	0,6	0,2		24512	1,390	0,626
16	22,753	7,195	0,411	0,0	0,1		560183	0,819	1,036
17	23,587	12,018	0,266	0,1	0,1		145897	0,640	1,054
18	24,187	27,395	1,065	0,2	0,3		339932	1,054	0,652
19	25,620	78,532	1,647	0,5	0,4		141600	1,056	1,466
20	30,937	46,705	0,943	0,3	0,2		197190	1,013	4,327
21	35,553	15,181	0,378	0,1	0,1		431073	0,856	4,180
22	36,637	38,468	0,628	0,3	0,1		328026	2,137	1,028
23	39,703	12,547	0,769	0,1	0,1		691645	0,669	2,974
24	40,420	24,045	0,669	0,2	0,2		1190154	1,668	0,906
25	42,937	162,329	10,724	2,4	2,4		862449	2,030	3,387
26	44,820	34,086	0,627	0,2	0,1		356639	1,155	1,741
27	47,070	16,365	0,423	0,1	0,1		2123588	0,618	2,350
28	47,553	24,272	1,059	0,2	0,3		1830199	1,241	0,803
29	51,637	3,559	0,083	0,0	0,0		60292054	0,522	10,951
30	53,287	55,883	2,410	0,4	0,6		968338	1,156	3,042
31	54,120	41,136	1,999	0,3	0,5		2646227	0,911	1,069
32	54,967	30,659	1,109	0,2	0,3		1054358	0,976	1,278
33	55,603	17,643	0,547	0,1	0,2		3233333	0,790	1,241
34	57,637	408,161	3,620	2,7	0,9		160420	0,756	1,299
	Total	15138,414	421,114	100,0	100,0				64,394

(M6)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	RTI [cp/m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
1	2,527	11,191	0,335	0,0	0,1		2055	0,803	0,000
2	3,577	884,175	45,353	2,7	7,8		18972	0,580	1,441
3	3,827	1318,842	55,545	4,1	9,5		6490	1,500	0,381
4	4,427	4931,935	110,069	15,3	18,9		4389	2,719	0,588
5	5,043	343,755	13,857	1,1	2,4		10683	0,964	1,449
6	6,393	589,600	18,511	1,8	3,2		9699	1,025	0,573
7	7,060	2318,730	71,121	7,2	12,2		31308	2,647	0,713
8	9,760	198,536	2,625	0,5	0,5		7330	0,837	1,967
9	10,743	70,461	2,112	0,2	0,4		35523	0,600	0,645
10	11,243	156,535	2,359	0,5	0,4		10003	1,479	0,331
11	12,860	926,935	20,032	2,9	3,4		45206	1,350	1,048
12	14,710	260,933	5,436	0,8	0,9		50648	1,904	1,650
13	16,227	52,909	1,223	0,2	0,2		45967	1,611	1,207
14	17,510	1062,361	36,135	3,3	6,2		248147	2,041	1,286
15	19,677	66,642	1,133	0,2	0,2		30984	1,164	1,653
16	21,227	49,769	0,809	0,2	0,2		46454	1,567	0,826
17	22,768	93,267	0,974	0,3	0,2		16600	2,816	0,648
18	25,743	384,533	7,006	1,2	1,2		236000	2,525	1,513
19	30,943	86,765	0,855	0,3	0,1		39605	0,791	2,781
20	32,277	75,857	0,993	0,2	0,2		89341	3,895	0,567
21	36,393	283,799	1,596	0,9	0,3		11689	1,164	1,038
22	42,360	790,964	4,703	2,5	0,8		12960	0,502	0,944

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	Ethi [tp./m]	Symmetry/Tail ng [.]	[Resolution]
23	42,942	598,500	8,525	1,9	1,5		85049	1,368	0,125
24	45,177	807,779	7,258	2,5	1,3		55603	0,807	0,729
25	47,077	586,579	9,027	1,8	1,6		163432	0,544	0,600
26	47,543	853,852	10,488	2,6	1,8		113311	2,045	0,201
27	51,640	1925,400	12,096	6,0	2,1		35198	0,503	1,078
28	53,341	2816,329	26,541	8,8	5,1		141481	0,874	0,473
29	55,310	564,741	17,834	3,1	3,1		174721	0,606	0,951
30	55,791	676,694	19,476	3,3	3,3		958060	0,770	0,444
31	57,950	4140,032	25,950	17,9	4,6		44772	0,777	0,774
32	59,931	1064,524	26,177	5,5	5,0		114809	0,999	0,505
33	62,669	811,869	9,033	3,6	1,6		131204	0,947	0,854
	Total	12206,262	682,225	100,0	100,0				20,006

Produit analysé :extrait aqueux(M1,M3)(DO254 ,DO280)



Fig(19) :Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M1,M3)de spiruline.

Tableau (XV) : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M1)

Result Table (Total - act 2 spinline - Channel 2)

	Reten. Time [min]	Area [mV*s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	FW [g/mol]	Symmetry/Tail [%]	Resolution
1	1.637	321.070	4.678	0.3	0.3		250	1.301	0.000
2	4.770	4204.902	129.862	3.7	10.3		11413	1.237	2.370
3	5.737	2145.322	67.510	1.9	5.0		15396	1.968	1.192
4	8.670	1738.961	42.737	1.6	3.2		22000	1.016	3.176
5	10.137	298.886	7.097	0.3	0.5		23015	1.554	1.324
6	11.737	211.771	4.188	0.2	0.3		36125	2.296	1.390
7	13.770	15.006	0.627	0.0	0.0		72048	1.223	2.016
8	14.770	4.909	0.131	0.0	0.0		321746	0.990	0.878
9	15.470	1535.281	32.726	1.4	2.5		52604	1.912	1.338
10	17.453	583.201	10.636	0.2	0.8		351215	0.801	2.310
11	17.820	301.417	11.996	0.3	0.9		209009	2.788	0.601
12	19.103	43.098	2.291	0.0	0.2		722911	0.911	2.342
13	19.637	967.433	46.669	0.9	3.6		571861	1.590	1.734
14	20.470	23.731	1.739	0.0	0.1		1087013	1.402	2.049
15	21.037	47.916	1.307	0.0	0.1		68070	1.017	3.680
16	25.287	177.430	2.006	0.2	0.1		33912	1.170	1.300
17	31.703	241.446	6.116	0.2	0.5		631322	2.888	3.964
18	35.587	108.638	1.076	0.1	0.1		69493	0.870	3.340
19	35.903	32.993	0.380	0.0	0.1		418070	1.318	1.804
20	40.453	8.091	0.335	0.0	0.0		1425356	0.729	1.847
21	41.887	87.690	0.846	0.1	0.1		106665	0.766	0.991
22	43.253	355.479	7.999	0.3	0.5		346613	2.028	0.793
23	45.937	255.527	4.512	0.2	0.3		184191	0.610	1.666
24	55.487	40620.461	160.991	26.7	11.8		22505	0.610	2.245
25	58.603	73878.551	340.641	21.6	25.1		792802	0.614	0.731
26	59.423	13021.281	452.980	29.8	33.4		232035	1.978	0.412
	Total	120719.017	1356.562	100.0	100.0				42.766

(M3)

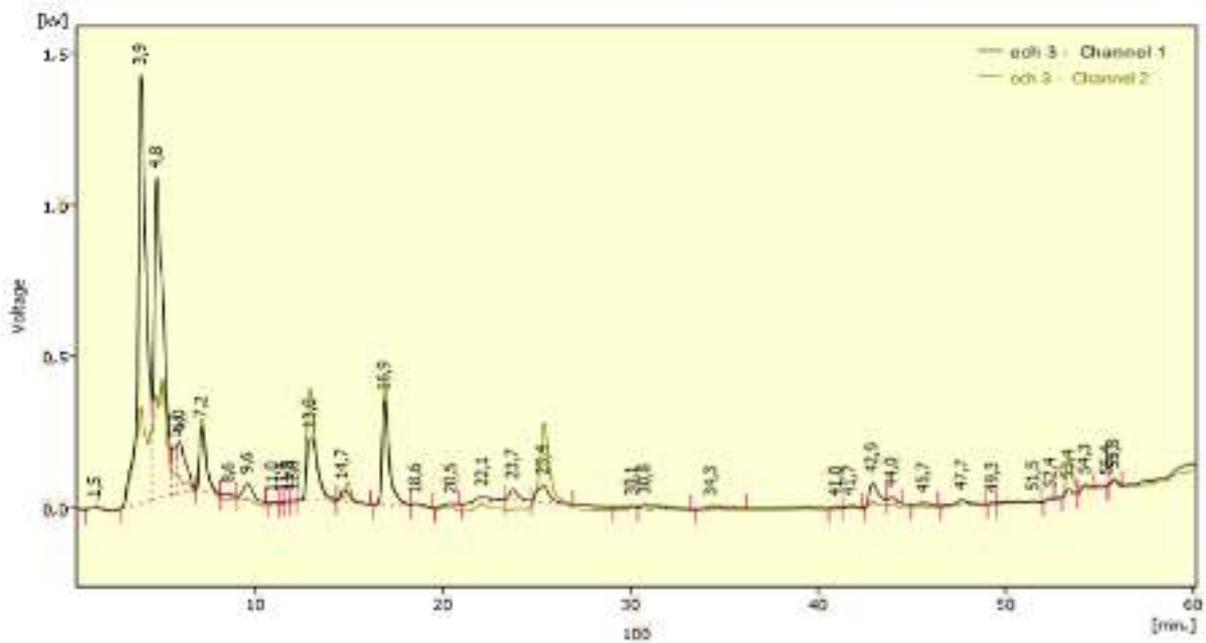
Chromatogram C:\VIC\brly\Work1\DATA\ch2 2 spinline.FRM

	Reten. Time [min]	Area [mV*s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	FW [g/mol]	Symmetry/Tail [%]	Resolution
1	1.637	321.070	4.678	0.3	0.3		250	1.301	0.000
2	4.770	4204.902	129.862	3.7	10.3		11413	1.237	2.370
3	5.737	2145.322	67.510	1.9	5.0		15396	1.968	1.192
4	8.670	1738.961	42.737	1.6	3.2		22000	1.016	3.176
5	10.137	298.886	7.097	0.3	0.5		23015	1.554	1.324
6	11.737	211.771	4.188	0.2	0.3		36125	2.296	1.390
7	13.770	15.006	0.627	0.0	0.0		72048	1.223	2.016
8	14.770	4.909	0.131	0.0	0.0		321746	0.990	0.878
9	15.470	1535.281	32.726	1.4	2.5		52604	1.912	1.338
10	17.453	583.201	10.636	0.2	0.8		351215	0.801	2.310
11	17.820	301.417	11.996	0.3	0.9		209009	2.788	0.601
12	19.103	43.098	2.291	0.0	0.2		722911	0.911	2.342
13	19.637	967.433	46.669	0.9	3.6		571861	1.590	1.734
14	20.470	23.731	1.739	0.0	0.1		1087013	1.402	2.049
15	21.037	47.916	1.307	0.0	0.1		68070	1.017	3.680
16	25.287	177.430	2.006	0.2	0.1		33912	1.170	1.300
17	31.703	241.446	6.116	0.2	0.5		631322	2.888	3.964
18	35.587	108.638	1.076	0.1	0.1		69493	0.870	3.340
19	35.903	32.993	0.380	0.0	0.1		418070	1.318	1.804
20	40.453	8.091	0.335	0.0	0.0		1425356	0.729	1.847
21	41.887	87.690	0.846	0.1	0.1		106665	0.766	0.991
22	43.253	355.479	7.999	0.3	0.5		346613	2.028	0.793
23	45.937	255.527	4.512	0.2	0.3		184191	0.610	1.666
24	55.487	40620.461	160.991	26.7	11.8		22505	0.610	2.245
25	58.603	73878.551	340.641	21.6	25.1		792802	0.614	0.731
26	59.423	13021.281	452.980	29.8	33.4		232035	1.978	0.412
	Total	120719.017	1356.562	100.0	100.0				42.766

Result Table (Unsat - ech 2 spiruline - Channel 2)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	Eff. [cpu/m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
31	53,477	2724,562	12,784	3,6	2,8		128006	0,574	0,660
32	55,360	4026,144	43,413	6,5	3,5		67076	0,711	0,581
33	56,927	2872,489	46,702	5,3	4,0		148454	0,882	0,486
34	58,727	9615,193	209,707	12,8	17,9		765211	0,580	0,941
35	59,460	13062,100	325,325	30,4	27,7		232988	1,906	0,432
36	62,593	1738,567	10,081	2,3	0,9		17434	2,495	0,568
37	67,427	80,962	1,309	0,1	0,1		250997	1,252	0,890
	Total	75315,804	1171,532	100,0	100,0				10,813

Produit analysé :extrait aqueux(M7,M8)(DO254 ,DO280)



Fig(20) :Résultat de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux (M7,M8)de spiruline.

Tableau (XVI) : Résultats de l'analyse par HPLC de l'extrait aqueux(M7)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	Eff1 [s.p./m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
1	1.487	4.099	0.130	0.0	0.0		3444	0.601	0.000
2	3.903	4401.908	141.205	32.8	34.6		8337	0.894	3.979
3	4.753	3673.586	106.873	27.4	25.9		7614	2.000	0.980
4	5.737	213.317	15.539	1.6	3.5		60074	0.636	1.420
5	5.970	568.010	17.005	4.2	4.2		33092	2.527	0.332
6	7.173	519.174	20.562	3.9	5.0		42171	1.020	1.440
7	8.597	21.625	0.721	0.2	0.2		24000	0.308	1.700
8	9.597	179.388	5.075	1.3	1.4		27559	1.341	1.080
9	10.953	5.912	0.325	0.0	0.1		144475	0.982	1.869
10	11.037	1.583	0.189	0.0	0.0		1273741	0.679	1.391
11	11.797	1.760	0.141	0.0	0.0		554146	0.622	1.511
12	12.037	2.100	0.200	0.0	0.0		460700	0.962	0.826
13	12.953	629.759	20.402	6.2	5.0		46240	2.037	1.329
14	14.697	123.879	3.716	0.9	0.9		94336	1.682	1.796
15	16.993	672.590	34.266	6.5	6.4		279300	1.881	3.114
16	18.570	25.394	0.837	0.2	0.2		188888	2.079	2.500
17	20.470	26.260	0.764	0.3	0.2		81809	0.732	1.863
18	22.137	113.380	1.893	0.8	0.5		26184	1.052	0.897
19	23.737	110.927	3.646	0.8	0.9		327400	1.617	1.006
20	25.353	249.346	5.601	1.9	1.4		143078	1.421	1.673
21	30.103	17.679	0.513	0.1	0.1		578351	0.655	5.004
22	30.797	90.848	1.131	0.7	0.3		107351	3.357	0.573
23	34.337	75.647	0.946	0.6	0.2		79319	1.652	1.843
24	40.997	7.172	0.247	0.1	0.1		1780426	0.889	4.884
25	41.720	19.557	0.576	0.1	0.1		637533	1.280	0.991
26	42.920	204.707	6.967	1.5	1.7		850094	1.361	1.362
27	43.953	28.094	1.064	0.2	0.3		942093	1.440	1.261
28	45.653	36.125	0.897	0.3	0.2		514440	1.003	1.740
29	47.670	93.882	1.772	0.6	0.4		623163	1.036	1.821
30	49.337	5.443	0.244	0.0	0.1		3283897	0.789	2.120
31	51.593	43.275	0.530	0.3	0.1		1330500	0.596	3.379
32	52.420	13.267	0.621	0.1	0.2		2633759	0.735	1.335
33	53.370	50.085	2.151	0.4	0.5		1525673	1.210	1.413
34	54.253	54.235	2.075	0.4	0.5		830461	1.102	0.965
35	95.420	0.534	0.164	0.0	0.0		6328507	0.889	1.967
36	95.787	47.891	2.147	0.4	0.5		2982028	1.176	1.047
37	62.653	670.351	7.928	5.0	1.9		254741	0.793	4.521
	Total	13403.804	407.967	100.0	100.0				67.541

(M8)

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	Eff1 [s.p./m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
1	1.403	2.628	0.096	0.0	0.0		7917	0.992	0.000
2	1.643	590.360	21.090	2.2	5.4		17488	0.590	5.436
3	3.893	940.033	34.232	3.7	7.4		1220	1.545	0.344
4	4.427	320.294	26.385	1.3	5.7		46250	0.722	0.803
5	4.710	705.335	35.204	2.8	6.3		20065	0.808	0.590
6	5.043	1312.270	43.885	5.2	9.5		12232	1.958	0.474
7	5.743	392.295	12.376	1.5	2.7		10182	2.571	0.765
8	6.410	281.446	9.498	1.1	2.1		13379	1.991	0.665
9	7.160	1231.017	35.218	4.9	6.5		29790	3.262	0.860
10	5.493	247.991	3.895	1.0	0.8		6056	1.813	1.776
11	11.260	106.563	2.133	0.4	0.5		15018	0.929	0.890
12	12.377	176.886	4.224	0.7	0.9		23427	0.585	0.844
13	12.910	1559.881	46.509	6.2	8.8		68294	2.217	0.446
14	14.943	489.445	9.441	1.9	2.0		120392	1.488	2.465
15	16.893	1220.193	42.303	4.8	9.1		253280	2.201	2.852
16	18.560	121.583	2.495	0.5	0.5		49287	2.294	1.995
17	20.110	59.896	1.037	0.2	0.2		44512	1.325	0.971
18	22.160	136.787	2.941	0.5	0.4		57628	1.344	1.226
19	25.393	1347.631	29.093	5.3	6.3		248668	1.617	2.532

	Reten. Time [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]	Compound Name	Eff. [µg/m]	Symmetry/Tail ng [-]	[Resolution]
20	30,160	103,084	1,744	0,4	0,3		110995	0,755	3,775
21	31,377	81,588	1,173	0,3	0,2		58118	3,717	0,618
22	34,577	67,734	0,667	0,2	0,1		39991	1,476	1,184
23	41,710	14,946	0,467	0,1	0,1		937961	1,653	3,703
24	42,910	777,241	2,933	1,1	0,4		88307	2,679	0,718
25	45,527	337,707	3,543	1,3	0,8		72212	0,973	0,935
26	47,643	743,979	7,106	2,9	1,5		48952	0,907	0,617
27	51,893	1493,975	9,907	5,9	2,1		30246	0,550	0,844
28	53,343	2579,747	25,904	10,2	5,6		122137	0,926	0,462
29	55,777	1627,367	19,661	6,4	4,2		149853	0,689	0,919
30	60,077	6183,503	26,497	24,4	5,7		19064	0,635	0,832
31	62,660	638,691	7,307	2,5	1,6		244705	0,767	0,516
	Total	25355,378	462,914	100,0	100,0				40,671

Références bibliographiques

- A -

1/AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS) , 1990. Official methods and recommended practices. 4th ed.

2/Anbarasan V., Kishor Kumar V., Satheesh Kumar P., Venkatachalam T., (2011)- In Vitro evaluation of antioxidant activity of blue green algae *Spirulina platensis*. Int. J. Pharma. Sci. Res., 2(10); 2616-2618. In Boutalbi, S. criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Spirulina platensis*) université d'Ouargla .2014

3/Annapurna, V. (1991). Bioavailability of *Spirulina* carotenes in preschool children. J. Clin. Biochem Nutrition. Vol. 10:145-151.

4/Anusuya, D.M. et Venkatarman, L.V. (1983). Supplementary value of the proteins of the bluegreen algae *Spirulina platensis* to rice and wheat proteins. Nutr. Rep. Internat. Vol. 28:1029-1035

- B -

5/Ballot, A. (2004). Cyanobacteria in Kenyan Rift Valley lakes – A biological and toxicological study. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin 2004.

6/Belay A, 2007. *Spirulina (Arthrospira)*: production and quality assurance in *Spirulina* In Gershuin ME et Belay A. *Human Nutrition and Health*. Taylor et francis.

7/BELGUIDOUM .M . 2012. Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygothymum* . Université d'ouargla

8/Benarbia.N ;Djaziri.R ;Belkader.W ;Belkacem ;N.Kadiata.M ;Malaisse.W .J ;Sener.A(2013) . Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seed extracts. Asian Pacific journal of tropical biomedicine,3(1):35-40.

9/BROWN R.M., LARSON D.A. & BOLD H.C. 1964. Airborne algae: their abundance and heterogeneity. Science 143: 583-585.

10/Bouchoukh.I(2017).cours botanique ,2^{ème} Annees LMD,université constantine 1(SNV)P :9-10

11/Bougandoura N., 2010 Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calamintha ssp nepta* (nabta) et *Ajuga iva* (chendgoura) de l'ouest d'Algérie. Mémoire magister;université Tlemcen.

12/Boutalbi S., (2014)- Criblage chimique et l'activité biologique de spiruline (*Arthrospiraplatensis*), Master II Biotechnologie végétale, université KasdiMerbah Ouargla.

13/Bujard, E., Braco, U., Mauron, J., Mottu, F., Nabholz, A., Wuhrmann, J.J. et Clément G. (1970). Composition and Nutritive Value of Blue Green Algae (*Spirulina*) and their Possible Use in Food Formulations. 3rd.international Congress of Food Science and Technology, Washington.

Références bibliographiques

14/Branger B, Cadudal JL, Delobel M, Ouoba H, Yameogo P, Ouedraogo D, Guerin D, Valea A, Zombre C, Ancel P.(2003)- La spiruline comme complément alimentaire dans la malnutrition du nourrisson au Burkina-Faso Arch Pediatr. 10(5):424-31.

- C -

15/Charpy L, 2008. Colloque International « la Spiruline et le développement », formation et transfert de technologie, en matière de culture de Spiruline : 28 - 29 et 30 avril 2008.Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR : 8, 9, 89, 91, 131-134.

16/Charpy L, Langlade MJ, Alliod R (2008). *La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ?* Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. 49 p.

17/Castenholz R W and Waterbury J B., 1989. Oxygenic photosynthetic bacteria. Section 19, In: Staley J T, Bryant M P, Pfennig N and Holt J G., Eds. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3, Williams and Wilkins. Baltimore, USA. pp 1710-1806.

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

19/CHAUMONT D., 1995, Bases physiologiques et technologiques de la conception de photobioréacteurs pour la culture contrôlée de microalgues. Application à l'étude de la plasticité métabolique de *Phorphyridium cruentum* Naegliet *Haematococcus pluvialis* Flotow. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques de Saint Jérôme, 245

20/Clement.G ;Rebeller ;M,(1974),Etude de la culture des algues Spirulines dans l'eau de mer. Institut Français du Pétrole.Compte rendu de fin de contrat d'une recherche financée par la Délégation Générale à la Recherche Scientifique et Technique (DGRST),contrat,n°,73,7,1096,p8 .

21/Cohen Z, Reungjitchachawali M, Siangdung W, Tanticharoen M (2003). *Production and partial purification of γ -linolenic acid and some pigments from Spirulina platensis.* Journal of Applied Phycology 5: 109-115.

22/Cruchot, (2008), La spiruline – Bilan et perspectives, thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de médecine et pharmacie de Besançon, université de France-Comité, France.

Clément G. (1975b) Production et constituant caractéristiques des algues *Spirulina platensis* et *maxima*. Ann. Nutr. Alim. 29 : 477-488

- D -

23/DANESI E.,RANGEL-YAGUI C.,CARVALHO J. and SATO S., 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. Biomass and Bioenergy, vol.23, 4, 261-269.

Références bibliographiques

24/Debois, C. (2007). Mise au point d'une méthode de lyse cellulaire et évaluation d'un test de terrain pour la mesure des microcystines libérées par les cyanobactéries dans les eaux de surface. Centre d'expertise en analyse environnementale. Québec. p. 1-17.

25/Doke, J.M. (2005). An Improved and Efficient Method for the Extraction of Phycocyanin from *Spirulina* sp. International Journal of Food Engineering. Vol. 1(2):1-11.

26/Durand-Chastel H., et Toulemont A., (2008)- Spiruline algue de vie, bulletin de l'institut océanographique, Monaco, Numéro spéciale 12, pp : 49-57, In colloque international sur la spiruline « développement, formation et transfert technologique, en matière de culture de la spiruline » Toliara, Sud ouest de Madagascar- avril.

-f-

27/ Falquet J et Hurni J.P., (2006). Spiruline, Aspects nutritionnels. Publication Antenna Technologies. Genève

28/ Faucher O., Coupal B., Leduy A. (1979) Utilization of seawater-urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. Can. J. Microbiol. 25 : 752-759

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

30/Fox R.D., 1999. *Spiruline Technique, pratique et promesse.* EDISUD, Aix-en-Provence. p 246.. ISBN 2-74490100-8. p. 18-129.

31/Francis.R ;Annick.R ;Danielcruché ;(2004)Analyse chimique.Methode et techniques instrumentales modernes.Masson,Paris,1992 pour la 1^{er}edition.

-g-

32/Geitler, L. (2005). Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Leipzig, Akad. Verslagsges. 1932. Reprinted 1971, New York, Johnson. p. 1-1196

-h-

33/Hudson, B.J.F. et Karis, I.G. (1974). The Lipids of the Alga *Spirulina*. J. Sci. Fd. Agric. Vol. 25:759-763.

-j-

34/Jacquet J., 1976. Microflore des préparations de spirulines. Ann. Nutr. Alim., 29, 589-601.

Références bibliographiques

35/Jarisoa, T (2005). Adaptation de la spiruline du sud de Madagascar à la culture en eau de mer mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. p.188.

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

-k-

37/Karumi, Y ; Onyeyili, P.A ; Ougbuaja, V.O ; (2004). Identification of activit principales of M.balsamina (Blsam Apple) leafextract. J.Med.Sci, 4(3) ; 179-182.

-l-

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

39/Léonard, J. (1968). Discovery, ecology and nutritional utilization of *Spirulina platensis*. Communication à la réunion du Swedish. Council for Applird Research, Stockholm, 11.

40/LOUTZ S. & DINNE K. (2000). Salissures et altérations des matériaux pierreux par les microorganismes. CSTC Magazine 3-13.

-m-

41/Mary, I. (2003). Mécanismes moléculaires au stresses environnemaux chez la cyanobactéries marine *Prochlorococcus*. Thèse, Université de Rennes I. p. 1-151

42/Manet A. (2016). La spiruline: indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. Thèse d'exercice. Université Grenoble Alpes

43/Metdji. (2018). L'élimination du diclofénac par une mixtured de microalgues. memoire de fin d'étude en pharmacie industrielle.

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

-n-

45/Nelissen, B., Willmotte, A., Neefs, J. M. et Wachter, R. (1994). Phylogenetic relation ships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. Systematic and Applied Microbiology. Vol. 17 : 206-210.

-p-

46/Pierlovisi C., (2007)- L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun? Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des

Références bibliographiques

Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).

-r-

47/Rippka, R. (1988). Isolation and purification of cyanobacteria. *Methods Enzymol.* Vol. 167: 3-27.

48/Romay C., Ledon N., Gonzalez R., (1998)- Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation. *Inflammation Research.* 47: p. 334- 338.

-s-

49/Salés, S. (2004). Compte-rendu du Mini-colloque sur la spiruline à Tamanrasset. Association Targuinca.

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

51/Samejo M. Q, Sumbul A. , Shah S. , Memon S.B; Chundrigar S.,2013 Phytochemical screening of *Tamarix dioica* Roxb. ex Roch University of Sindh, Jamshoro 76080, Pakistan

52/Savithamma N., Lingarao M. and Suhulatha D. 2011. Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites University Andhra Pradesh, India

53/Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Muhling, M., Whitton, B.A., Belay, A. et Wilmotte, A. (1999). *Arthrospira* (Spirulina) strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. *Fems Microbiology Letters.* Vol. 172: 213-222.

54/Schuep W., Rettenmaier R.1994. Analysis of vitamin E homologs in plasma and tissue : high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol.*, 234, 294- 302.

55/Schwartz, J. et Shklar, G. (1988). Prevention of experimental oral cancer by extracts of *Spirulina-dunaliella* algae. *Nutr Cancer.* Vol. 11:127-134.

56/Seladji M. ; Belmekki N. ; Azmani I. ; Bouziani I. ; Bendimerad N., 2013- Phytochemical Screening of two Algerian medicinal plants, *University of Tlemcen- Algeria.*

57/Seutier C., Tremolieres J., 1975 - Valeurs alimentaires des algues spirulines chez l'Homme. *Ann.Nutr. Aliment.* 29(6), pages 517-533.

58/Silvano, J. (2005). Toxicité des cyanobactéries d'eau douce vis à vis des animaux domestiques et sauvages. Thèse, Université Claude Bernard - Lyon. (Médecine - Pharmacie). p. 1-116.

59/Sirnoval C. (1993). La spiruline, une arme contre la malnutrition, histoire et perspectives. *Bulletin de l'institut océanographique, Monaco,* 12 :203-222.

60/Sguera S. 12 décembre 2008, *Spirulina platensis* et ces constituants, intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques, Docteur en Pharmacie, UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1.France.

-t-

Références bibliographiques

61/Thomazeau, S. (2006). Diversité phylogénétique et toxinique des cyanobactéries du Sénégal et du Burkina Faso. Thèse, Université Pierre et Marie Curie- Paris 6. p. 6-7.

62/Tredici M. R., Papuzzo T., Tomaselli L. (1986) .Outdoor mass culture of *Spirulina maxima* in sea-water App. Microbiol. and Biotechnol, pp 47-50

-v-

63/Vicat J-P. , Doumnang J-C. M., Yves B. (2014)- Teneurs en éléments majeurs et traces de spirulines (*Arthrospira platensis*) originaires de France, du Tchad, du Togo, du Niger, du Mali, du Burkina-Faso et de République centrafricaine, Elsevier Microbiologie: bactériologie, mycologie, parasitologie, virologie/Microbiology: bacteriology, mycology, parasitology, virology C. R. Biologies 337 .44–52.

64/Vidalo J-L., (2008). Spiruline l'algue bleue de sante et de prévention, édition Dauphin.

65/Vijayakumari B., Sasikala V., Radha S.R., Tamilnadu, (2013) preliminary phytochemical screening of the various extracts of rotulaaquaticalour.india.

66/Vonshak A., Guy R., Guy M. (1988) The response of the filamentous Cyanobacterium *Spirulina platensis* to salt stress Arch.Microbiol. Micro-Algal Biotechnology Laboratory, 150 : 417- 420

67/Wu B., Tseng C. K., Xiang W. (1993) Large-scale cultivation of *Spirulina* in seawater based culture medium. Bot. Mar. 36 : 99-102