



**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département Agro-alimentaire**

**Filière : Sciences Alimentaires**

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme master en**

**Spécialité: Nutrition et Diététique Humaine**

# **Recherche des substances naturelles utiles dans la fabrication de Complément Alimentaire**

**Présenté par :**

**Zaaraoui Meriem**

**Benmehale Rima**

**Devant les jurys :**

**•Mme Benmansour .Présidente**

**MCB-Blida1**

**•Mr Boughera F.Examineur**

**MCB-Blida1**

**•Mme Metidji H.Promotrice**

**MCB-Blida1**

**Année universitaire 2020/2021**

## *Remerciements :*

*Tout d'abord, nous louons et remercions Dieu Tout-Puissant, qui a accompli sa grâce sur nous et nous a honorés en atteignant ce jour, qui a de longues nuits, les yeux pleuraient et les cœurs sont restés éveillés pour l'atteindre.*

*Un très grand merci pour notre promotrice Mme Metidji Hafidha la plus personne gentille parmi les rares personnes positives et aimantes qui sont passées dans ma vie et ont laissé une empreinte merci beaucoup d'avoir partagé avec nous, vous connaissances, votre temps, votre énergie, cordialement merci beaucoup , Que Dieu la bénisse pour sa connaissance et sa travail*

*Nous adressons également mes plus vifs remerciements au membre du jury pour avoir accepté de présider et corriger l'intégralité de ce manuscrit Mme Benmansour nabahet Et Mr Bougerra fateh*

*À tous les membres de la famille universitaire de l'université de Blida*  
*1,*

*et un grand merci à la plus belle promo Au Monde NDH 2021*

*Enfin nous tenons à remercier également toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

### **Dédicace :**

*Tous d'abord je dédie ce travail à ma raison de vie, ma reine, ma chandelle, ma chère maman. Merci pour toujours m'aider à se rappeler ce qui est important dans la vie je réalise que ma vie sans toi n'est plus rien du tout,*

*et aussi mon premier amour, le premier amour dans la vie de chaque fille , mon père malgré tu es loin de moi , loin de mon côté gauche , loin de mes yeux ,tu me manques beaucoup tu étais et tu resteras mon amour mon bonheur الله يرحمك , je vous aime plus que vous imaginez , Aucune dédicace ne saurait exprimer, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis ma naissance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.*

*Mes chers frères Ahmed Et Abdelillah, bien sûr sans oublier ma petite princesse ma sœur soundous ma grand-mère yema Zohra mes chers oncles, Tantes, leurs époux et épouses , à mes chères cousins et cousines Ainsi que la mémoire de ma très chère tante fethia et mon grand père Ahmed Et Hamid je vous aime vous me manquez beaucoup*  
*Siham ma sœur ma très chère copine et ça ange ma jolie princesse*  
*AYA*

*Meriem:*

## **Dédicace :**

*Je commence à dédie ce travail à la mémoire de ma mère je t'offre cette thèse Oui ma très chère j'ai fini enfin mes études je voudrais vous avoir avec moi mais je sais que tu es heureuse et fière de moi , je dédie aussi à ma petite famille mon Oncle Toufik , et sa femme qui a été comme une maman pour moi Siham ,*

*A mes chers frères Abderrahim, Ishak, Akram et sans oublier le sourire de notre vie Yasser j'adore quand vous m'appeler YAYA je vous souhaite mon bébé une vie pleine de bonheur et de succès*

*à Zahra, qui a été notre soutien à la résidence universitaire. Merci pour vos efforts et vos conseils à notre égard dans nos moments de faiblesse. Vous avez été la source d'énergie et la source de sécurité.*

*Rima*

## **Résumé :**

Les compléments alimentaires sont des préparations destinées à compléter le régime alimentaire avec des nutriments. Parmi ces compléments nutritionnels naturels se trouve *Arthrospira platensis* communément appelée spiruline, une algue microscopique, largement connue dans le domaine des applications nutritionnelles et thérapeutiques en raison de sa richesse en nutriments. Les résultats de la recherche ont montré que la structure de la spiruline est multicellulaire et filamenteuse avec des trichomes cylindriques bleu-vert. La biomasse augmente en fonction du temps et avec le type de milieux de culture. L'analyse comparée des paramètres physico-chimiques des différentes souches de différentes origines sont très riche en composés bioactifs (plus de 60% de protéines, 15% de glucides). La spiruline contient tous les minéraux essentiels (7% du poids sec). Les valeurs en quantité de chlorophylle a sont plus importantes que le chlorophylle b. L'étude de l'optimisation de l'extraction de la phycocyanine à partir de cette microalgue à montrer que les paramètres intensité de CEP, temps et température de traitement ainsi que leurs interactions ont un effet significatif sur le rendement d'extraction des phycocyanines. La teneur en polyphénols la plus élevée avec une valeur de 67,52 mg/g de poids sec.

## **Mots clés :**

Complément alimentaire, algues, *Arthrospira platensis*, paramètres physico-chimiques

## **Summary**

Nutritional supplements are preparations designed to supplement the diet with nutrients. Among these natural nutritional supplements is *Arthrospira platensis* commonly known as spirulina, a microscopic alga, widely known in the field of nutritional and therapeutic applications due to its richness in nutrients. The

research results showed that the structure of spirulina is multicellular and filamentous with blue-green cylindrical trichomes. The biomass increases with time and with the type of culture media. The comparative analysis of the physico-chemical parameters of the different strains from different origins are very rich in bioactive compounds (more than 60% of proteins, 15% of carbohydrates). Spirulina contains all essential minerals (7% of dry weight). The values in quantity of chlorophyll a are more important than chlorophyll b. The study of the optimization of phycocyanin extraction from this microalga showed that the parameters RWH intensity, processing time and temperature as well as their interactions have a significant effect on the phycocyanin extraction yield. The highest polyphenol content with a value of 67.52 mg/g dry Wight

### **Key words:**

Food supplement, algae, *Arthrospira platensis*, physicochemical parameters

### **المخلص:**

المكملات الغذائية هي مستحضرات تهدف إلى تكملة النظام الغذائي بالمغذيات. من بين هذه المكملات الغذائية الطبيعية أرثروسبيريرا بلاتنسيس المعروف باسم سبيرولينا ، وهي طحالب مجهرية معروفة على نطاق واسع في مجال التطبيقات الغذائية والعلاجية بسبب غناها بالعناصر الغذائية. أظهرت نتائج البحث أن بنية سبيرولينا متعددة الخلايا وخيطية مع ترايخومات أسطوانية زرقاء وخضراء. تزداد الكتلة الحيوية بمرور الوقت ومع نوع وسائط الثقافة. التحليل المقارن للمعلمات الفيزيائية والكيميائية لسلاسل مختلفة من أصول مختلفة غنية جدًا بالمركبات النشطة بيولوجيًا (أكثر من 60% بروتين ، 15% كربوهيدرات). يحتوي السبيرولينا على جميع المعادن الأساسية (7% من الوزن الجاف). القيم في كمية الكلوروفيل أ أكبر من الكلوروفيل ب. أظهرت دراسة التحسين الأمثل لاستخلاص الفيكوسيانين من هذه الطحالب الدقيقة أن معاملات شدة CEP ووقت المعالجة ودرجة الحرارة بالإضافة إلى تفاعلاتها لها تأثير معنوي على محصول استخلاص الفيكوسيانين. أعلى محتوى من مادة البوليفينول بقيمة 67.52 مجم / جرام وزن جاف.

### **الكلمات المفتاحية :**

مكمل غذائي ، طحالب ، أرثروسبيريرا بلاتنسيس ، بارامترات فيزيائية كيميائية

Tableau 1 : Taxonomie récapitulative

Tableau 2 : Résumé de plusieurs descriptions morphologique *d'Arthrospira platensis*

Tableau 3 : Composition moyenne globale de la spiruline

Tableau 4 : Comparative des taux de protéines de quelques aliments

Tableau 5 : Teneurs en lipides (mg/kg) de matière sèche de la spiruline

Tableau6 : Caractéristiques des souches étudiées

Tableau 7 : milieux de cultures utilisés par les deux auteurs

Tableau 8: composition physico-chimique des différentes souches de spiruline

Tableau 9 : Paramètres physico-chimiques *d'Arthrospira platensis*

Tableau10 : Profil en acides gras des cinq spirulines étudiées exprimées en % de lipides totaux

Tableau 11: Composition en acides gras des lipides totaux et des lipides polaires chez *Arthrospira platensis*

Tableau12 : AGS, AGMI, AGPI,  $\omega 3$ ,  $\omega 6$  (en pour cent des lipides totaux)

Tableau13 : Teneur en éléments minéraux et en métaux lourds en mg/kg de MS .

Tableau 14 : Dénombrement de la microflore des souches étudiées

Tableau 15: Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche *d'Arthrospira platensis*

Tableau16 : Teneur en phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) en (%), phycocyanine brute en (%) et pureté

**Figure 1** : Morphologies typiques de la Spiruline

**Figure 2.** : Variabilité morphologique d'*A. platensis*. A: filament d'alimentaire oit (spiruline 4); B et B': forme ondulée (spiruline 5). Bar représente 500  $\mu\text{m}$ .

**Figure 3** : Concentration de la biomasse (g/L) des souches 4 et 5 cultivées en milieu Zarrouk.

**Figure 4** : Evolution de la croissance de la teneur en chlorophylle a et du pH dans les milieux M1 et Mz. Mz : milieu synthétique zarrouk (témoin). M1 : Eau usée domestique brute fortifiée par six éléments minéraux

**Figure 5** : Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes en (mg/g) dans différentes souches de spiruline.

**Figure 6** : Teneur en polyphénols de différentes souches de spiruline

**Figure7** : La concentration des polyphénols totaux issue de la Phycocianine (a) : Algérienne, (b) : Tunisienne



## Liste des Abréviations :

---

SAP	société Agro-piscicole
PCA	plate count Agar (milieu de culture)
O.G.A	oxytetracycline Glucose Agar
APC	Allophycocyanine
PE	Phycoérythrine
LSD	Least Significant Différence
AG	Acide Gras
AP	Acide palmitique
AS	Acide Stéarique
AO	Acide Oléique
AA	Acide Arachidique
AGMI	Acide gras Mono insaturé
AGPI	Acide gras poly insaturé
AGS	Acide gras saturé
ARDA	Amplified ribosomal DNA restriction analysis

La nourriture est notre principale médecine. Hippocrate, le père de la médecine, a dit : “Que votre nourriture soit votre premier médicament.” Ainsi, une alimentation saine est la clé qui protège notre corps de nombreuses maladies. Avec le développement continu d’une alimentation saine, la nutrition est devenue les préoccupations des consommateurs et des fabricants qui redécouvrent les avantages des substances d’origine naturelle, notamment dans les compléments alimentaires. La valeur nutritionnelle des algues est marquée par l’existence de plusieurs ingrédients : fibres, minéraux, protéines, vitamines et antioxydants((**Vega,2019**). En effet, pour cette raison, certains types d’algues sont largement utilisés comme suppléments alimentaires

Le marché des compléments alimentaires est en plein essor. Ces produits bénéficient d’une forte confiance concernant leur sécurité d’utilisation, leur consommation est liée à cette notion d’avantages pour la santé (**Paris et al.,2015**). En fait, une mauvaise utilisation de ces produits peut donner un effet nuisible à la santé des consommateurs.

Parmi les ressources alimentaires non conventionnelles a été adoptée une algue bleue qui offre jusqu’à 70 % de protéines, de sels minéraux, des oligo-éléments et de nombreuses vitamines . Cette algue : c’est *Arthrospira platensis* communément appelée spiruline

La spiruline grâce à ses qualités nutritionnelles exceptionnelles est proposée dans l’alimentation humaine notamment comme complément protéique d’une alimentation suffisamment énergétique par ailleurs.

Outre des propriétés nutritionnelles avérées, la spiruline connaît aujourd’hui un regain d’intérêt de la part de la communauté scientifique internationale du fait de sa possible utilisation comme source de produits à vertus thérapeutiques(**Sguera,2008**). En effet, le potentiel de cette micro-algue semble être important et ceci principalement grâce à son principal pigment, la phycocyanine, donnant à cet organisme sa couleur bleu-vert caractéristique. Certaines études ont en outre mis en évidence des activités sur le système immunitaire, le cancer, le sida mais aussi des effets dans la lutte contre le vieillissement cellulaire, des propriétés hépatoprotectrices, anti-inflammatoires. La spiruline semble avoir un potentiel très vaste(**Charpyetal.,2008**).

Ce travail a pour objectif de contribuer au développement des connaissances sur cette espèce à intérêt alimentaire par une comparaison des résultats récents obtenus sur la spiruline.

**I. Historique**

Selon **Houlbert, 2016** L'histoire des compléments alimentaires commence dans les années 1970 par un précurseur de la « juste dose » : Linus Pauling qui introduit le concept de nutrition ortho moléculaire : «soulager les personnes par un apport optimal de substances naturellement présentes dans nature ».

L'émergence des compléments alimentaires se fit donc surtout à partir de cette période, et de par leur libre accès, plus particulièrement aux Etats-Unis (**Houlbert, 2016**)

En 1987, on retrouve les premiers compléments alimentaires hors pharmacie, dans les GMS mais aussi et surtout au sein des « boutiques de régime » du réseau bio (**Houlbert, 2016**)

Quatre ans plus tard, en 1991, avec le déremboursement des vitamines et des minéraux, le marché commence à se développer réellement, mais pour les petits distributeurs, la grande difficulté à l'époque était le flou règlementaire qui gravitait autour des compléments alimentaires. D'ailleurs, la plupart des laboratoires ont connu des procès pour « tentative d'exercice illégal de la pharmacie ». (**Houlbert, 2016**)

1996, l'affaire de la « vache folle » a imposé au niveau européen un contrôle strict sur les gélules à base de gélatine bovine.

Le **10 juin 2002**, une directive européenne (**2002/46/CE**) voit le jour avec une définition plus large, prenant en compte les plantes et autres substances à buts physiologiques être employés dans la fabrication des compléments alimentaires et fixa une liste positive des différentes formes de vitamines et minéraux, et les doses journalières maximales.

Une liste de 222 allégations de santé autorisées a été publiée au journal officiel de l'Union Européenne, marquant une reconnaissance officielle de l'action bénéfique des vitamines, minéraux et de certaines substances.

**II. Définition du terme « complément alimentaire »**

« Un produit destiné à être ingéré en complément de l'alimentation courante afin de pallier une insuffisance réelle ou supposée des apports journaliers ». Cette définition fait donc clairement des compléments alimentaires une catégorie d'aliments dotés d'une valeur nutritionnelle et rentrent dans la catégorie des denrées alimentaires. Cette première définition a été complétée par **la Directive Européenne 2002/46/CE**.

**Selon l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement, et du travail (L'ANSES):**

Le concept de complément alimentaire est relativement récent. Il a été défini par la directive **2002/46/CE du Parlement européen et du Conseil du 10 juin 2002 transposés par le décret du 20 mars 2006**

Les compléments alimentaires sont des denrées alimentaires dont le but est de compléter Le régime alimentaire normal et qui constituent une source concentrée de nutriments ou d'autres substances ayant un effet nutritionnel ou physiologique seuls ou combinés, dépourvus d'activité pharmacologique, ils ne permettent ni de prévenir, ni de soigner des maladies. Commercialisés sous forme de doses, à savoir les formes de présentation telles que les gélules, les pastilles, les comprimés, les pilules et autres formes similaires, ainsi que les sachets de poudre, les ampoules de liquide, les flacons munis d'un compte-gouttes et les autres formes analogues de préparations liquides ou en poudre destinées à être prises en unîtes mesurées de faible quantité.

**Selon le journal officiel de la république Algérienne :**

En application des dispositions de la loi n° **09-03 du 29 Safar 1430 correspondant au 25 février 2009, susvisée, par le décret exécutif n°12-214 du 23 Joumada Ethania 1433 correspondant au 15 mai 2012**, fixant les conditions et les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine, l'article 3 définit les compléments alimentaires comme :

Selon **Horaires, 2012** "Des sources concentrées en vitamines et en sels minéraux éléments nutritifs, seuls ou en combinaison, commercialisées sous forme de gélules, comprimés, poudres ou solutions. Ils ne sont pas ingérés sous forme de produits alimentaires habituels mais sont ingérés en petite quantité et dont l'objectif est de suppléer la carence du régime alimentaire habituel en vitamines et/ou en sels minéraux.

Cette définition reste quand même restrictive, quand on sait qu'il existe des compléments alimentaires à base de plantes ou de préparation de plantes qui ont pour but de pallier les carences du régime alimentaire régulier d'une personne. De plus, en Algérie, la liste de plantes autorisées dans les compléments alimentaires n'est pas précisée.

**III. Caractéristique d'un complément alimentaire :**

D'après l'étude de **Zubiria, 2018** les caractéristiques de complément alimentaire sont les suivants :

- Source concentré d'un ou plusieurs nutriments
- Souvent spécifique à certaines pathologies, situations ou périodes de la vie
- Ne se substitue en aucun cas à une alimentation équilibrée et variée
- Le respect des posologies est indispensable pour éviter les risques de surdosage
- Auto médication fortement déconseillée

#### **IV. Composition d'un complément alimentaire :**

Les compléments alimentaires se présentent sous formes de préparations liquides ou en poudre. En vente libre, ils peuvent fournir vitamines, minéraux « calcium, magnésium» ou oligoéléments « zinc, sélénium», antioxydants, acides gras essentiels « Omega3», probiotiques « ferments lactiques», plantes ou extraits de plantes «reine-des-prés, vigne rouge» (**Ben-idir et Seddiki, 2017**)

#### **V. Utilisation des compléments alimentaires :**

Les compléments alimentaires peuvent être utiles dans différentes étapes de la vie comme la croissance, la grossesse, la ménopause ou encore le vieillissement. Ils sont également intéressants pour les personnes ayant une alimentation particulière comme les végétariens ou celles qui prennent régulièrement des repas déséquilibrés ; ainsi que pour celles ayant des activités et conditions de vie particulière comme le sport intensif, les études, les voyages. Ils ont également des effets favorables sur la santé pour tous les petits problèmes d'inconfort passager comme la digestion, le stress, la fatigue, les articulations(**2002/46/CE**)

#### **VI. Risques toxicologiques des compléments alimentaires :**

Les compléments peuvent avoir des conséquences néfastes sur la santé des consommateurs et entraîner des effets toxiques en raison notamment de surdosage ou de surconsommation (dépassement des apports maximal tolérables) (**Belkhamassi et al.2017**) un apport maximal tolérable (AMT) est défini comme un apport quotidien continu le plus élevé qui ne comporte vraisemblablement pas de risques d'effets indésirables pour la santé chez la plupart des membres d'un groupe donné, il est défini en fonction de l'étape de la vie et du sexe (**Belkhamassi et al.2017**).

- L'AMT ne doit jamais être considérée comme un apport recommandé.

- Le risque d'effets indésirables augmente à mesure que l'apport s'élève au-dessus de l'AMT.

Si l'achat de compléments alimentaires ne nécessite pas de prescription médicale, ils ne sont pas pour autant des produits anodins. Ils peuvent contenir des substances très actives et même interdites, par conséquent, des effets indésirables non négligeables peuvent apparaître (**Belkhamassi et al.2017**).

Les effets indésirables rapportés étaient surtout d'ordre cardiovasculaire et moins fréquemment d'ordre neuropsychiatrique, hépatique, néphrologique, dermatologique et même carcinogène (**Belkhamassi et al.2017**).

### **Effets cardiovasculaires:**

Une consommation excessive de compléments alimentaires est susceptible de provoquer des problèmes cardiovasculaires.

En effet, en 2009, des chercheurs (**Nazeri et al .,2009**) ont découvert qu'une grande partie des compléments alimentaires destinés à perdre du poids contenait des substances pouvant provoquer des arythmies cardiaques parmi ces substances on a :L'éphédra , la sibutramine et L'orange amère

### **Effets neuropsychiatriques :**

Une prise non contrôlée et exagérée des compléments alimentaires peut affecter le système nerveux et engendrer des effets néfastes d'ordre neuropsychiatrique, parmi les composants qui peuvent entraîner des troubles neurologiques on a la vitamine B1 (La thiamine), la vitamine B6 ( La pyridoxine) et la caféine :

### **Les effets hépatiques :**

La consommation des compléments alimentaires amaigrissants n'est pas toujours anodine, plusieurs atteintes hépatiques liées à la prise de ce genre de suppléments ont été remarqué. Tels que Léthévert (Camellia Sinensis ) :

### **Effets rénaux:**

Plusieurs études (**Poortmans et al. 1998; Thomas et al. ; 2013; Refik et al,2013**) ont montrées qu'un apport excédentaire de certains types de compléments alimentaires peut être

néphrotoxiques, en particulier chez les patients atteints d'une maladie rénale chronique (MRC) éventuellement ignorée. Notamment, les herbes chinoises à base d'acide aristolochique, la vitamine C à haute dose et la créatine peuvent entraîner une insuffisance rénale aiguë ou chronique, parfois irréversible.

**Effets cutanés :**

La théobromine, une substance chimique dans le méthylxanthine de la famille des alcaloïdes, présente dans les graines du cacao et le chocolat. Elle est responsable des effets du chocolat sur notre humeur. En effet, elle bloque les récepteurs de l'adénosine contenus dans le cerveau (tout comme la caféine et la théophylline) et stimule les influx nerveux. Elle possède un pouvoir diurétique et stimulant. (William 1943)

**Effets carcinogènes :**

Les compléments alimentaires sont également mis en cause dans l'apparition de cancer, en particulier ceux contenant une forte concentration de caroténoïdes et de vitamines (La provitamine A, bêta-carotène). (Sati et al. 2009)

**VII. Règlementation des compléments alimentaires :****Réglementation Algérienne :**

Selon la réglementation algérienne du décret 12-124 relatif aux additifs alimentaires qui fixe l'additif comme toute substance qui n'est normalement ni consommée en tant que denrée alimentaire en soi, ni utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire; qui présente ou non une valeur nutritive ; dont l'adjonction intentionnelle à une denrée alimentaire dans un but technologique ou organoleptique à une étape quelconque de fabrication , de la transformation , de la préparation , du traitement , du conditionnement , de l'emballage , du transport ou de l'entreposage de cette denrée effectue ses caractéristiques et devient elle-même ou ces dérivés , directement ou indirectement , un composant de cette denrée alimentaires sont des sources concentrées de ces éléments nutritifs, seuls ou en combinaison, commercialisées sous forme de gélules, comprimés, poudre ou solution. Ils ne sont pas ingérés sous la forme de produits alimentaires habituels mais sont ingérés en petite quantité et dont l'objectif est de suppléer la carence du régime alimentaire habituel en vitamines et/ou sels minéraux.

Selon JOCE, 2002 l'utilisation d'un additif alimentaire doit répondre aux conditions énumérées ci-après

- ❖ Préserver la qualité nutritionnelle de la denrée alimentaire ; servir de composant nécessaire dans les aliments diététiques ;
  - ❖ Améliorer la conservation ou la stabilité de la denrée alimentaire ou ses propriétés organoleptiques, à condition de ne pas altérer la nature ou la qualité de façon à tromper et induire en erreur le consommateur ;
  - ❖ Servir d'adjuvant dans une étape dont les compléments alimentaires en vitamines et sels minéraux : née du processus de mise à la consommation, à condition que l'additif alimentaire ne soit pas utilisé pour masquer les effets de l'utilisation d'une matière première de mauvaise qualité ou de méthodes technologiques inappropriées; Ainsi ni aliment, ni médicament, les compléments alimentaires ont un statut à part, parfois ambigu, d'autant plus qu'apparaissent des aliments dits "fonctionnels " , qui seraient différents des autres par des propriétés liées soient à leur composition naturelle intrinsèque soit à des constituants ajoutés ou modifiés .
- Les compléments alimentaires ne sont pas des additifs alimentaires ; cependant ils peuvent contenir des additifs, des arômes et des auxiliaires technologiques (support d'additifs) dont l'emploi est autorisés en alimentation humaine.



Les parties matériel et méthodes ainsi que résultats et discussion sont tirés des travaux précédents qui ont étudié la spiruline à intérêt alimentaire, les travaux sont :

**Thèse de doctorat :** Aouir, 2017 :Extraction des composés bioactifs de la spiruline par le champ électrique pulsé

**Quatre articles scientifiques :**

**Article 1 :** Kambou et *al.*, 2018. Parametres physico-chimiques et métabolites secondaires de *Spirulina platensis* (Oscillatoriaceae), une algue produite et consommée en Cote d’Ivoire.

**Article 2:**Goulamabasse, 2018. La spiruline : activités thérapeutiques et son interet dans la lutte contre la malnutrition à Madagascar.

**Article 3 :** Bellahcen et *al.*, 2013. Culture et production de la *Spirulina platensis* dans les eaux usées domestiques

**Article 4 :**Xue et *al.*, 2002. Molecular species composition of glycolipids from Spirulina platensis.

## **I. Matériel**

### **I.1. Matériel végétal**

Le matériel végétal est constitué de la biomasse sèche de *Arthrospira platensis* dont la poudre est issue de la Société Agro-Piscicole (SAP) de Lamé ; dans le Département d’Adzopé où se trouve l’unité de production dans l’étude de (**Kambou, 2018**)

Dans l’étude de **Goulamabasse,2018**’*Arthrospira platensi* utilisée provient de la Faculté de Pharmacie de Lille

L’étude a été réalisée par **Aouir,2017** sur 5 souches d’*Arthrospira platensi* originaires de trois pays différents. Trois d’entre elles ont été fournies sous forme sèche (spiruline 1, 2, 3) et les deux autres sous forme fraîche (spiruline 4 et 5) (tableau 6).

Pour l’étude de **Ould Bellahcen, 2013**, la souche d’*Arthrospira platensis* a été fournie en culture dans des flacons de 250 ml, par le laboratoire de phytobiologie de l’Université de liège (Belgique).

**Xue et al., 2002** ont utilisé l’espèce fournie de la société Yude Microalgae development (Shenzhen China)

**Tableau6** : Caractéristiques des souches étudiées (**Aouir, 2017**)

Désignation	Nom	Origine– milieu de culture	Souche	Forme
Spirulina1 (Sèche)	Hawaiian Spirulina Pacifica (HSP)	Cyanothec Corporation Hawaii, USA– Pacific océan	Lonar	Spiralée
Spirulina2 (sèche)	Hiri-Tamenrasset (HTAM)	Tamanrasset, Algérie– milieu Hiri	Paracas	Ondulée
Spirulina3 (sèche)	Dihé	Tchad – lac Tchad milieu naturel	Lonar	Spiralée
Spirulina4 (Fraîche)	M2	Université des Sciences et Technologies (Ouargla, Algérie) – milieu Zarrouk (cultivée au laboratoire)	M2	Droite
Spirulina5 (Fraîche)	Hiri-Tamenrasset (HTAM)	Tamanrasset, Algérie – milieu Zarrouk (cultivée au laboratoire)	Paracas	Ondulée

## I. Méthodes :

### II.1. Morphologies des souches :

La morphologie des spirulines fraîches (4 et 5), a été observée avec des grossissements de 10 et 40 à l'aide d'un microscope optique (Optech Linear Biostar B4, München, Allemagne) (**Aouir, 2017**)

### II.2. Conditions et contrôle de la culture

Les conditions de culture ont été pratiquement similaires dans les travaux de **Aouir, 2017** et **Ould Bellahcen, 2013**, la différence elle est dans les milieux de culture utilisée

Tableau 7 : milieux de cultures utilisés par les deux auteurs

Etude	Milieu de culture
Aouir, 2017	Souche 1 : eau de mer Souche 2 : Milieu de Hliri Souche 3 : eau de lac de Tchad Souche 4 et 5 : milieu de Zarrouk
<i>Ould Bellahcen, 2013</i>	Milieu de Zarrouk

Les cultures ont été contrôlées sous les conditions suivantes :

- Une température de  $(30 \pm 2,0^\circ\text{C})$
- Un pH entre 9 et 10. Mesuré à l'aide d'un pH mètre, il permet la vérification de la stabilité de la culture
- Une salinité d'environ  $16 \pm 2$  g/L. La salinité a été mesurée par un conductimètre électrique facteur limitant dans la culture de la spiruline.
- Un flux lumineux d'une intensité de 2500 Lux ( $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) assuré par des tubes fluorescents. L'intervalle entre l'éclairage et l'obscurité est de 12 heures.
- Une agitation à l'aide d'une pompe à air d'un débit de 25 mL/min, assurant une exposition uniforme des cellules à la lumière, pour une croissance optimale et une meilleure valeur nutritive.

L'identification de la pureté de la culture et la mesure de la densité des cellules ont été déterminées à l'aide d'un microscope

Après trois semaines de culture, les cellules d'algues ont été récoltées par filtration sur toile sérigraphie, lavées avec de l'eau distillée et finalement séchées pendant 3 jours à l'ombre et à température ambiante ( $\sim 20^\circ\text{C}$ ).

Dans les autres travaux **Kambou, 2018**, **Goulamabasse, 2018**, **Xue et al. 2002**, les spirulines ont été utilisé sous forme de poudre.

### II.3. Détermination de la croissance

La croissance a été déterminée par la méthode du poids sec selon **Madkour et al. 2012**. 10 ml d'échantillons d'algues ont été filtrés à travers une membrane de filtre Wathman ( $\varnothing$  47 mm et une taille des pores de  $0,45 \mu\text{m}$ ) séchés (2 heures à  $100^\circ\text{C}$ ) et prépesés. Ils sont

ensuite lavés deux fois avec de l'eau distillée, séchés pendant 4 heures à 80°C, refroidis dans le dessiccateur avant de les peser à nouveau. La différence entre les deux pesées permet de calculer le poids sec

## **II.4. Analyses physico-chimiques :**

### **II.4.1. Détermination du taux d'humidité :**

2g de poudre d'algues ont été séchés à 105 °C dans une étuve jusqu'à obtention d'un poids constant. La différence entre les deux pesées avant et après séchage permet de calculer la teneur en eau

### **II.4.2. Détermination de la teneur en fibres :**

La teneur en fibres alimentaires a été déterminée à l'aide de la méthode décrite par **Van Soest, 1963**.

### **II.4.3. Détermination du taux de cendres :**

Les cendres totales ont été déterminées à l'aide d'un four à moufle en incinérant 5 g d'échantillon à 550 °C pendant 3 heures. Cette méthode consiste à mesurer le poids des échantillons avant et après l'incinération.

### **II.4.4. Détermination du taux de glucides :**

La teneur totale en glucides a été déterminée selon le protocole de **Dubois et al, 1956**. Le principe consiste à réaliser une hydrolyse acide avec de l'acide sulfurique concentré puis à provoquer une réaction colorimétrique en utilisant le phénol. En présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides, la densité optique est déterminée entre 450 à 550 nm. La teneur en sucres est mesurée en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec le glucose comme standard.

### **II.4.5. Détermination du taux de protéines :**

La méthode **Kjeldahl, 1883** selon la norme française **NFV 03 050:1970 (Anonyme, 1970)** c'est la technique utilisée pour le dosage des protéines. Le principe de la technique consiste en la transformation de l'azote organique en azote minéral ainsi que le titrage de l'ammoniaque par un dosage acido-basique.

Par convention, la teneur en protéines de l'échantillon est alors obtenue en multipliant la teneur en azote total par un facteur de conversion empirique. Ce coefficient prend en compte la masse molaire moyenne des acides aminés composant les protéines à quantifier. Il est fixé à 6,25 dans notre cas.

Noté **P**, la teneur en protéines est exprimée en pourcentage et est égale à :

$$P (\%) = 6,25 \cdot \frac{14,007 \cdot N \cdot (V_1 - V_0)}{m \cdot MS\%}$$

14,007 g/mol est la masse molaire de l'azote

**N** est la normalité de la solution d'acide chlorhydrique (0,1 N)

**V0** : est le volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique sur un échantillon blanc (en mL)

**V1** : est le volume utilisé de la solution d'acide chlorhydrique (en mL)

**M** : est la masse de l'échantillon (1 g)

**MS** : est la teneur en matière sèche (%) de l'échantillon

#### II.4.6. Détermination de la teneur en lipides :

Les lipides ont été extraits selon la méthode modifiée de **Xu et al,1998** en utilisant un mélange de solvant de chloroforme:méthanol (2:1, v/v). Après avoir réchauffé l'échantillon dans un appareil Soxhlet, le solvant est ensuite évaporé sous pression à l'aide d'un évaporateur à vide rotatif (Rotavapor, Heidolph G1, Allemagne). Après 5 heures d'extraction, la procédure est répétée trois fois jusqu'à ce que la totalité des lipides soit extraite. Ensuite les résidus ont été séchés et pondérés. Les résultats sont exprimés selon l'équation suite:

$$Lt (\%) = [M1 - M0]$$

**Lt** : est la teneur en lipides totaux

**M0** : masse en gramme du ballon vide.

**P** : la prise d'essai avant dessiccation

**M1** : masse en gramme du ballon avec l'échantillon après évaporation

### **II.5. Détermination du profil en acidesgras :**

Le profil en acides a été déterminé en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (GC, Chrompack CP 9002, Pays-Bas) selon la méthodologie décrite par **Tokus, Oglu et Ünal,2003**. Les acides gras ne sont pas analysés à l'état libre mais sont préalablement transformés en esters méthyliques d'acides gras correspondants (FAME) par méthylation selon la méthode de **Wolf,1968**. Le procédé de la méthylation consiste à mettre 0,2 g de matière grasse extraite précédemment dans des tubes à sceller, ajouter 0,5 mL de méthanol à 0,5 % d'acide sulfurique, sceller les tubes puis les porter à 140C°dans un bain à sec pendant 2 heures.

### **II.6. Dosage des éléments minéraux et des métauxlourds :**

Ce dosage a été réalisé selon la méthode décrite par **Pinta,1973**. Le mode opératoire est le suivant:

**a**-Homogénéiser la poudre végétale finement broyée et la sécher 24 heures à 105 °C.Refreidrir 30 minutes au dessiccateur puis peser 2 g d'échantillon en capsule de platine.

**b**- Disposer les capsules au four froid, élever la température à 450 °C en deux heures et la maintenir deuxheuresrefroidir. Les cendres obtenuessont généralement claires.

**c**- Humecter les cendres avec 2 à 3 mL d'eau et 1 mL d'acide chlorhydrique concentré lentement ajouté

**d**- Chauffer ensemble sur plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs, ajouter quelques ml d'eau

**e**- Filtrer sur filtre sans cendre, dans une fiole jaugée de 100 mL, rincer 3 ou 4 fois à l'eau tiède

**f**- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550 °C au maximum, puis reprendre par 5 mL d'acide fluorhydrique.

**g**- Aller à sec sur plaque chauffante ou bain-marie sans dépasser 100 °C ; reprendre par 1 mL de HCl concentré

**h-** Laver à l'eau tiède puis filtrer. Amener à 100 mL, compléter au trait de jauge après refroidissement.

Les sels [Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, Cr, Co, Cd, Ni, ] Ont été dosés par spectrométrie d'absorption atomique à flamme type Perkin Elmer Analyste 800. Les sels minéraux Ca, Na et K ont été dosés par une Chromatographie ionique de type Dionex ICS-3000. La concentration C des éléments minéraux exprimée en mg /L de MS est calculée par La formule suivante :

$$C \text{ (mg/L)} = \frac{T \times F}{P}$$

**C** : la concentration en éléments minéraux exprimée en mg/L.

**T** : la teneur de l'élément dosé par l'appareil.

**F** : le facteur de dilution (x100).

**P** : prise d'essai (2 g)

### **II.7. Calcul de la valeur énergétique :**

Le pouvoir calorifique totale des spirulines étudiées a été déterminé en multipliant les Valeurs totales des lipides, des protéines et des glucides par 9, 4 et 4 Kcal respectivement, puis En additionnant les résultats obtenus

### **II.8.composition microbiologique :**

Pour l'élaboration de la suspension mère, une préparation en façon aseptique d'une solution ayant une dilution de 1/10 (1 g d'échantillon auquel 9 mL d'eau physiologique ont été ajoutés). Différentes dilutions décimales sont retenues (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> Et 10<sup>-6</sup>) Pour les analyses.

#### **II.8.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) selon la norme NFV08-051 (Anonyme, 1992) :**

Pour cela, elle a transfère 0,1 mL des différentes dilutions décimales retenues (10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5Et 10-6) dans les boîtes de Pétri et on ajoute 15 mL environ de milieu de Plate Count Agar (PCA). Après solidification, une deuxième couche de gélose est déposée en Surface. Après l'incubation des boîtes de Pétri à 30 °C pendant 72 heures, seules les colonies Blanchâtres situées entre les 2 couches de PCA sont prises en compte. Elle a retient pour le Dénombrement, les boîtes de Pétri contenant un nombre compris entre 30 et 300 colonies.

### **II.8.2. Dénombrement de la flore fongique (FF) :**

Cette étape selon **Amel Aouir, 2017**, concerne les levures et les moisissures. Le milieu utilisé et le mode opératoire font Référence à la norme française **NF XP-OS-059-octobre 1996 (Anonyme,1996)**. Le milieu Utilisé pour le dénombrement des levures et des moisissures est l'Oxytetracycline Glucose Agar (O.G.A.). Le milieu O.G.A est coulé et refroidi dans des boîtes de Pétri. 0,1 mL des Dilutions sont étalés à la surface de la gélose. Après 5 jours d'incubation à 25 °C, on retient Les boîtes contenant moins de 150 colonies.

### **II.8.3. Dénombrement des coliformes totaux (CT) :**

**Amel Aouir** a fait cette étape Selon la NF **V08-050 (Anonyme, 2009)**, le milieu désoxycholate lactose agar (1%) a Eté utilisé. 1 mL d'une dilution est prélevé etensemencé dans la géloseen surfusion. Les incubations sont faites à 30 °C et les lectures après 48 heures. Le nombre total de germes exprimé en unité formant des colonies UFC/g de produit

## **II.9. Analyses phytochimiques:**

### **II.9.1. Dosage de la chlorophylle a, b et des caroténoïdes :**

La chlorophylle a, b et les caroténoïdes ont été déterminés selon la méthode modifiée décrite par **El-Sheekh etFathy,2009**. Dans ce procédé, un gramme de chaque échantillon deSpiruline est mis en suspension dans 50 mL d'acétone à 90% et agité vigoureusement avec unAgitateur magnétique (Stuart stir SB161, UK). Les solutions ont ensuite été placées dansL'obscurité à 4 °C et centrifugées à 4000 (x g) pendant 10 minutes à l'aide d'unecentrifugeuse(Kseroa Monaco, n °4222). Les obtenus ont été utilisés pour déterminer laConcentration de chlorophylle a (Chla), de chlorophylle b (Chlb) et des caroténoïdestotaux(Car) en mesurant l'absorbance aux longueurs d'onde 649, 664 et 470 nm. La densité optique Est lue au spectrophotomètre UV / Visible (Jenway Genova plus, Staffrdshire, Royaume-Uni). Le contenu en (mg/g) de chaque pigment a été quantifié à l'aided'équations**Lichtenthaler et Wellburn, 1985**



$$Chl_a = 13.75 \cdot A_{664} - 5.19 \cdot A_{649}$$

$$Chl_b = 27.43 \cdot A_{649} - 8.12 \cdot A_{664}$$

$$Car = (1000 \cdot A_{470} - 2.13 \cdot Chl_a - 97.64 \cdot Chl_b) / 209 \quad .$$

Où : A<sub>664</sub>, A<sub>649</sub> et A<sub>470</sub> sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde à 664, 649 et 470 nm.

### II.9.2. Dosage des pigments solubles dans l'eau (phycobiliprotéines) :

L'extraction et l'estimation des composants des phycobiliprotéines, y compris la Phycocyanine (C-PC), l'allophycocyanine (APC) et la phycoérythrine (PE), ont été Déterminées en utilisant un spectrophotomètre avec des longueurs d'onde 620, 652 et 562 nm Respectivement selon la méthode décrite par **Anamika et al,2005**. Le contenu de chaque Composante a été mesuré en utilisant les équations suivantes .

$$C - PC = [A_{620} - (0.474 \cdot A_{652})] / 5.34$$

$$APC = [A_{652} - (0.208 \cdot A_{620})] / 5.09$$

$$PE = [A_{562} - (2.41 \cdot C - PC) - (0.849 \cdot APC)] / 9.62$$

Où : A<sub>620</sub>, A<sub>652</sub> et A<sub>562</sub> sont les absorbances respectives de l'échantillon aux longueurs d'onde 620, 652 et 562 nm.

Le pourcentage de phycocyanine brute a été estimé elle a utilisée la méthode décrite par **Jourdan,2011** et calculé en utilisant l'équation (2.10). L'expérience consiste à dissoudre 4 g De spiruline dans 100 mL d'eau distillée.

$$\% PC = 1.873 \cdot [A_{615} - (0.474 \cdot A_{652})] \cdot DIL / C$$

Où : DIL est le facteur de dilution et C représente le pourcentage de poudresèche.

### II.9.3. Dosage des phénols totaux :

Les échantillons d'algues sèches qui ont été broyés en fine poudre (0,5 g) ont été utilisés pour l'extraction des phénols en utilisant 10 mL de méthanol (80%) à 35 °C pendant 24 heures selon le procédé décrit par **Cai et al., 2004**. Les échantillons de méthanol ont ensuite été refroidis à température ambiante puis centrifugés à 4000 (x g) pendant 10 minutes en utilisant une centrifugeuse (Kseroa Monaco, n°4222). Le surnageant obtenu a été utilisé pour l'estimation de la teneur phénolique totale. Le contenu phénolique total présent dans les microalgues a été déterminé en utilisant le réactif Folin Ciocalteu (**Singleton et Rossi 1965**). Les résultats ont été exprimés en Equivalent acide gallique (EAG)/g de poids sec de microalgues. La courbe d'étalonnage de l'absorbance à 765 nm en fonction de la concentration en acide gallique (phenol standard)

### **II.10. Analyse statistique :**

Les analyses en triplicate et les valeurs sont exprimées en valeur moyenne  $\pm$  écart-type (moyenne  $\pm$  E-type). Les comparaisons multiples des Moyennes de chaque analyse elle a fait leurs déterminations par utilisation de test de différence le moins significatif (LSD) au niveau de confiance de 95% et la différence entre les valeurs moyennes supérieures au LSD (0,95) a été déterminée comme significative. L'analyse de variance (**ANOVA**) a été réalisée en utilisant les modèles linéaires généraux du logiciel STATGRAPHICS Centurion XVI.II (STATPOINT Technologies, Inc. [www.STATGRAPHICS.com](http://www.STATGRAPHICS.com))

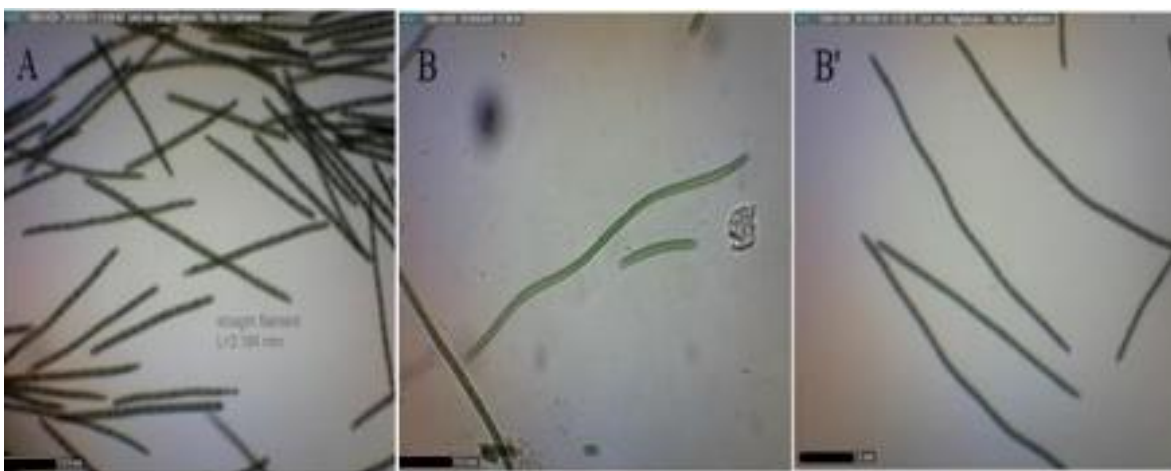
### I. Morphologie des souches étudiées

Les résultats obtenus par **Aouir, 2017** montrent que les cellules des souches *Spirulina* fraîches (4 et 5) observées au microscope (figure 2) ont une structure multicellulaire et filamenteuse avec des trichomes cylindriques bleu-vert, formant une hélice plus ou moins ouverte qui est la caractéristique du genre *Arthrospira* (**Fox, 1999**). Cependant, ces spirulines présentent des formes différentes.

La spiruline 4 est un filament droit, tandis que pour la spiruline 5 (B et B', Figure 2), l'inoculum présentait au départ une forme ondulée puis prenait, petit à petit, une forme droite.

D'après **Tomaselli, 1997**, le degré de spiralisation montre une grande variation et les cellules de *Spirulina* apparaissent parfois comme des trichomes droits dans la culture. En outre, **Scheldeman et al., 1999**, ont montré que les spirulines présentaient une morphologie variable sous l'effet des changements des conditions environnementales ou de culture. Selon **Jourdan, 2011**, les droites sont génétiquement de vraies spirulines mais possèdent l'inconvénient d'être difficiles à récolter.

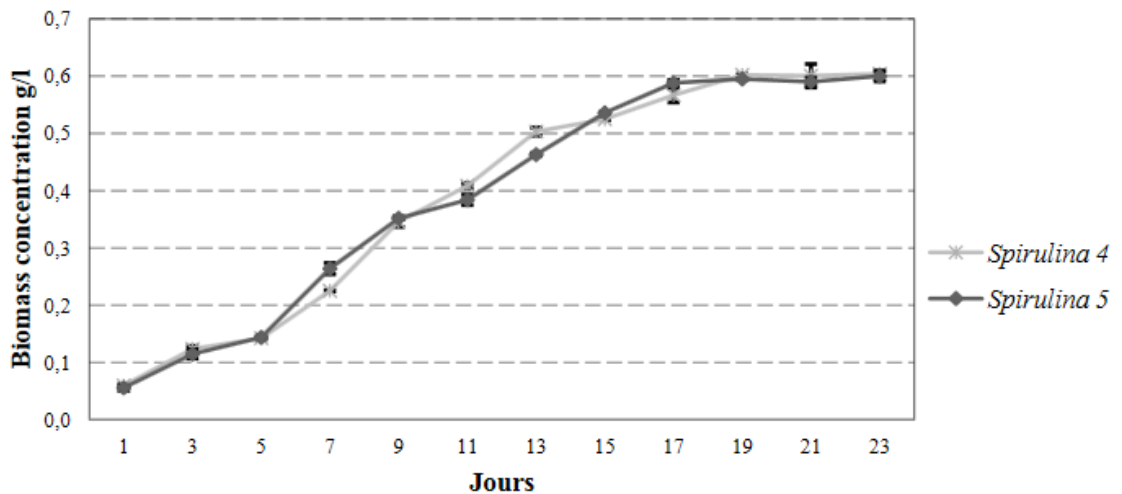
Selon **Aouir, 2017** la spiruline B' a changé de forme (ondulée à droite), ce qui est probablement dû au changement du milieu de culture (milieu Hiri vers Zarrouk). Plusieurs auteurs ont étudié les raisons de ce changement de morphologie. **Kumar et al., 2011** rapportent que les conditions physiques et chimiques du milieu de croissance pourraient être la cause des modifications de la forme filamenteuse des souches de *Spirulina*. Selon **Dhiab et al., 2007**, la modification de la morphologie du trichome de spiruline (de la forme hélicoïdale à la forme droite) est due à la variation des concentrations de NaCl du milieu de croissance.



**Figure 2.: Variabilité morphologique de *A. platensis*. A Filament droit (Spiruline 4) ; B, B' Forme ondulée (Spiruline 5). La barre représente 500  $\mu\text{m}$  (Aouir,2017)**

## II. Etude de la croissance

D'après l'étude d'**Aouir, 2017**, la spiruline a été cultivée pendant plus de trois semaines. Le taux de croissance est exprimé en (g/L) de poids sec (Figure3)

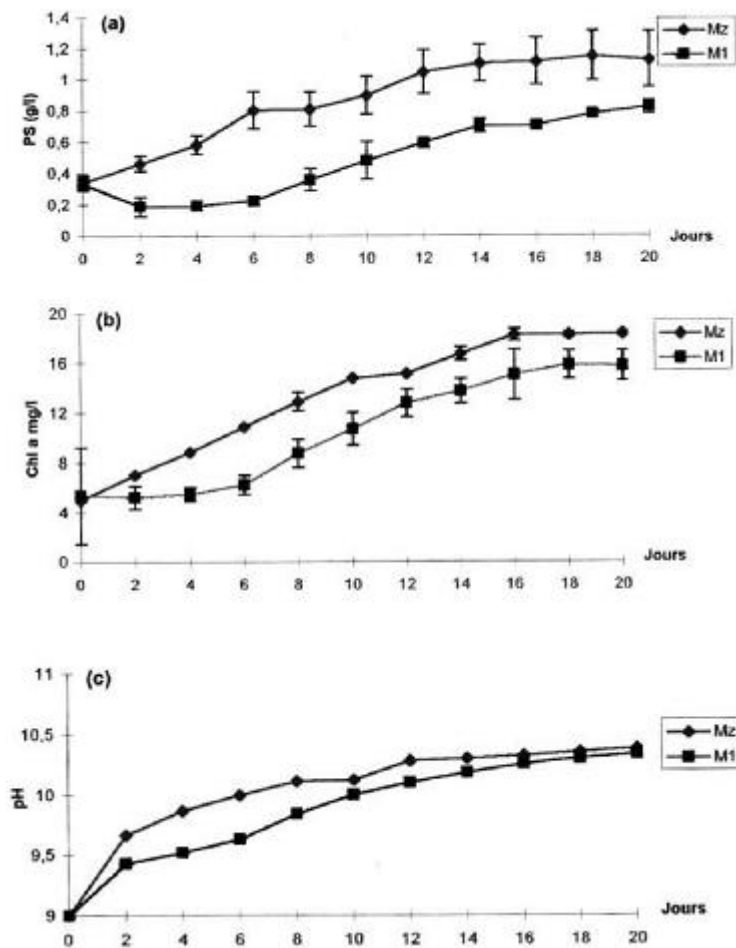


**Figure3 :** Concentration de la biomasse (g/L) des souches 4 et 5 cultivées en milieu Zarrouk.

La biomasse augmente en fonction du temps, avec une stabilité à partir de 19<sup>ème</sup> jour. Alors que pour les deux souches fraîches (Spirulina 4 et 5), la concentration maximale de la biomasse et la densité cellulaire sont, respectivement, de 0,60 g/L et de  $2,16 \times 10^7$  cellules/mL. (**Aouir, 2017**). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par **Kumar et al., 2011**.

Une notre étude sur la croissance de la spirulina réalisés par **Ould Bellahcen et al., 2013** qui avais comme but la recherche d'autres substrats de culture permettant de produire cette cyanobactérie massivement et à bas prix puisque la production de *Spirulina Platensis* sur un milieu de culture synthétique (milieu zarrouk) est très coûteuse vu les exigences trop élevées en éléments minéraux de cette algue. Les eaux usées domestiques peuvent constituer un bon substrat qui permettrait d'éviter l'apport couteux en engrais artificiels grâce à leur richesse en éléments fertilisants.

Etude de la croissance de *Spirulina platensis* cultivée est effectuée dans l'eau usée domestique brute fortifiée par six éléments minéraux ( $\text{CO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ , et  $\text{K}^+$ ) qui présente une déficience dans cette eau (figure4 ). Les résultats obtenus montrent l'évolution dans le temps la biomasse algale, la teneur en chlorophylle a et du pH. Une faible croissance durant les 6 premiers jours de la culture a été enregistrée, puis une augmentation progressive. Mais, cette croissance reste toujours faible par rapport à celle du milieu de référence (Mz)



**Figure 4: Evolution de la croissance de la teneur en chlorophylle a et du pH dans les milieux M1 et Mz. Mz : milieu synthétique zarrouk (témoin). M1 : Eau usée domestique brute fortifiée par six éléments minéraux (Ould Bellahcen et al., 2013)**

Concernant la productivité de la biomasse, différents auteurs ont signalé que, dans les cultures de microalgues, l'état nutritionnel est le principal facteur pouvant affecter la croissance et la productivité (Zarrouk, 1966; Fox, 1999; Kumar et al., 2011; Jourdan, 2011; Madkour et al., 2012; Shalaby et Shanab, 2013 et Ould Bellahcen et al., 2013).

### III. Composition physico-chimique :

Les résultats obtenus dans les travaux d'**Aouir, 2017** sur cinq poudres de spiruline sont résumés dans le tableau

**Tableau 8 : composition physico-chimique des différentes souches de spiruline (Aouir, 2017)**

Paramètres	<i>Spirulina 1</i>	<i>Spirulina 2</i>	<i>Spirulina 3</i>	<i>Spirulina 4</i>	<i>Spirulina 5</i>
Humidité (%)	4,70 ± 0,025 <sup>a</sup>	5,17 ± 0,072 <sup>b</sup>	8,40 ± 0,054 <sup>c</sup>	8,63 ± 0,028 <sup>d</sup>	9,77 ± 0,011 <sup>e</sup>
Cendres (%)	9,20 ± 0,113 <sup>b</sup>	9,30 ± 0,028 <sup>c</sup>	18,11 ± 0,076 <sup>e</sup>	8,23 ± 0,006 <sup>a</sup>	11,10 ± 0,092 <sup>d</sup>
Glucides (%)	15,63 ± 0,024 <sup>c</sup>	15,82 ± 0,087 <sup>c</sup>	13,64 ± 0,052 <sup>a</sup>	13,68 ± 0,091 <sup>b</sup>	15,26 ± 0,056 <sup>c</sup>
Protéines (%)	62,86 ± 0,009 <sup>c</sup>	59,23 ± 0,103 <sup>b</sup>	53,78 ± 0,027 <sup>a</sup>	59,80 ± 0,037 <sup>bc</sup>	59,35 ± 0,013 <sup>bc</sup>
Lipides (%)	8,08 ± 0,056 <sup>e</sup>	2,38 ± 0,027 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,34 <sup>a</sup>	2,95 ± 0,064 <sup>c</sup>	4,79 ± 0,075 <sup>d</sup>
Fibres (%)	3,05 ± 0,025 <sup>a</sup>	3,58 ± 0,047 <sup>c</sup>	3,54 ± 0,075 <sup>bc</sup>	3,79 ± 0,058 <sup>d</sup>	3,52 ± 0,048 <sup>b</sup>
Énergie (kJ)	1602,59 ± 2,25 <sup>d</sup>	1329,93 ± 1,85 <sup>b</sup>	1185,61 ± 2,48 <sup>a</sup>	1327,34 ± 3,51 <sup>b</sup>	1413,1 ± 2,35 <sup>c</sup>

Les exposants avec différentes lettres sont significativement différents à  $p < 0,05$ .

Alors que les résultats obtenues par **Kambou et al., 2018** sur les paramètres physico-chimiques de *Spirulina platensis* de Côte d'Ivoire cultivés dans différentes bassins de production sont présentés dans le tableau9 :

Tableau9 : Paramètres physico-chimiques de Spirulina platensis

Echantillon	B1	B3	B 4	B5	B6	B8
<b>% Humidité</b>	6,98 ± 0,15a	6,50 ± 0,07c	5,75 ± 0,05b	7,60 ± 0,21d	6,88 ± 0,13a	<b>6,75 ± 0,04a</b>
<b>% Cendres</b>	9,5 ± 0,08a	8,56 ± 0,44c	10,5 ± 0,55b	9,5 ± 0,5a	9,37±0,2 2a	<b>11 ± 0,05ab</b>
<b>% Fibres</b>	7,24 ± 0,31a	7,68 ± 0,47a	7,47 ± 0,28a	7,36 ± 0,04a	7,87±0,1 1a	<b>7,89 ± 0,03a</b>
<b>% Matière grasse</b>	6,2 ± 1,05a	6,5 ± 0,5a	6,5 ± 1,00a	6 ± 0,5a	6,5±0,5a	<b>6 ± 1,00a</b>
<b>% Protéines</b>	60,68 ± 1,62a	60,44 ± 3,17a	61,72 ± 0,85a	61,56 ± 0,19a	60,85±0, 37a	<b>60,40 ± 0,35a</b>
<b>% glucides totaux</b>	2,77 ± 0,70a	2,78 ± 0,06a	2,69 ± 0,04a	2,76 ± 0,21a	2,84±0,2 2a	<b>2,81± 0,05a</b>
<b>Energie (kcal)</b>	<b>526,2 ± 3,7a</b>	<b>540,18 ± 1,15a</b>	<b>535,26 ± 2,86a</b>	<b>530,12 ± 1,9a</b>	<b>531,54 ± 2,31a</b>	<b>511,1 ± 1,4a</b>

*Les moyennes affectées d'une même lettre sur la même ligne ne sont pas significativement différentes au seuil de 5%*

*\*: Valeur observée pour l'échantillon issue d'un mélange de Spirulina platensis provenant de tous des bassins. 8.56 ET 11*

Le premier paramètre à étudier est le taux d'humidité. Les résultats obtenus par **Aouir, 2017**. montrent que l'intervalle de l'humidité varie de 4.70 à 9.77 % pour les cinq espèces, des valeurs inférieures à 10%. Alors que, celle de **Kambou, 2018**, l'intervalle d'humidité est compris entre 5.75 et 7.60 %. Ce qui est recommandé pour le stockage à long terme des poudres de la Spirulina (**Becker, 1995**)

Le taux en cendres des échantillons est, respectivement, de 4,70 ; 5,17 ; 8,40 ; 8,63 et 9,77% pour les souches 1, 2, 3, 4 et 5 (**Aouir, 2017**). Ces résultats sont similaires à ceux reportés par **Tokus et al., 2003**. Les résultats obtenus par **Kambou et al., 2018** ont montré un intervalle plus élevé qui varie entre 8.56 ET 11 sur les six bassins d'expérimentations. La teneur en cendres dans

les cellules *Spirulina* 3 peut (18.11%) le plus élevé, peut être attribuée à la présence de sable et de certaines impuretés résultant du processus traditionnel de récolte et de séchage de la spiruline du Tchad appelée «Dihé» (**Sorto et Gonnet, 2007**). Dans cette étude, la différence de résultat est probablement due à la différence des conditions de culture (**Aouir, 2017, Komou et al., 2018**).

Concernant le contenu total en glucides ne varié pas significativement ( $p < 0,05$ ) entre les souches 1, 2 et 5. La teneur la plus basse dans la souche 3 (13.64%) (**Aouir, 2017**). Ces résultats sont presque similaires avec les travaux de **Quillet, 1975**. Tandis que, un taux plus faibles des glucides a été enregistré dans les six bassins variant de 2.69 au 2.84 (**Kambu et al., 2018**)

La quantité de protéine présente dans chaque souche variée d'une manière significative. La valeur la plus élevée est présentée dans la souche 1 (62.86 %). Alors que la plus faible dans la souche 3 avec 53.78%. Selon **Aouir, 2017**, cette valeur pourrait être attribué aux mauvaises conditions de croissance (Lac Tchad), sachant que le milieu naturel est un environnement impossible à contrôler. Les autres souches ont été cultivées dans des conditions étroitement contrôlées (cultures d'étangs ou en laboratoire). Ainsi que, les résultats de **Kambou et al., 2018**, ne variée pas d'un manière significative mais presque similaires avec celle de **Aouir, 2017**. Plusieurs auteurs ont confirmé que la teneur en protéines de la spiruline est très élevée et représente 10 à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche (**Fox, 1999 ; Kent et al., 2015**).

La teneur en lipides totale a été observée avec des concentrations pour les autres souches sont de 8.08, 2.38 ; 1,5 ; 2,95 et 4,79 %, respectivement pour les spirulines 1, 2, 3, 4 et 5 (**Aouir, 2017**). En outre, la valeur la plus remarquable est celle de la souche 1 plus riche avec un taux de 8,08%. Pour la souche *Spirulina* 2 (**Bensehaila et al., 2015**) ont trouvé une teneur en lipides de 7,28 %, ce qui est très élevé par rapport au résultat observé dans l'étude de Aouir, 2017 (2,38 %). Cette différence est étroitement liée aux différences de pH, de température et d'éclairage dans les conditions de culture (**Kumar et al., 2011**).

Cependant, **Hudson et Karis, 1974**.ont déclaré 11% de lipides dans *Spirulina maxima*. Dans différentes conditions de croissance, la teneur en lipides de *Spirulina* est significativement différente. Par exemple, les intensités lumineuses élevées et une température de 38 °C n'influent pas sur la composition en acides gras, mais ont un effet drastique sur la teneur en lipides, ce qui la réduit de 46% (**Cohen et al. 1987**).



Les fibres variant entre (3,05% et 3.79%) dans les cinq échantillons (**Aouir, 2017**). Alors que, un taux plus élevé est enregistré dans la spiruline de six bassins allant de (7.27-7.89%) (**Kambou et al., 2018**). Les travaux rapportés par **Koru , 2012** ont trouvés un taux de 3% qui est similaire avec celle de **Aouir, 2017**.

Le dernier paramètre étudié est la valeur énergétique. Le résultat le plus élevée en énergie est dans la souche 1 avec 1602.59 Kj. Alors que, la plus faible est la souche 3 et cela peut être expliqué par ses faibles teneurs en métabolites primaires (**Aouir, 2017**)

#### VI. Profil en acides gras des spirulines étudiées

Les résultats obtenus pour les acides gras (AG) analysés ont été exprimées en pourcentage des lipides totaux et sont représentées dans le tableau 10

**Tableau 10: Profil en acides gras des cinq spirulines étudiées exprimées en % de lipides totaux (Aouir, 2017)**

Acides Gras	<i>Spirulina 1</i>	<i>Spirulina 2</i>	<i>Spirulina 3</i>	<i>Spirulina 4</i>	<i>Spirulina 5</i>
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	0,42 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,46 ± 0,03 <sup>b</sup>	3,25 ± 0,19 <sup>c</sup>	3,26 ± 0,21 <sup>c</sup>	3,65 ± 0,02 <sup>d</sup>
C14:1	0,06 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,14 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,23 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>a</sup>
C15:0	0,15 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,08 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>a</sup>
C16:0	43,60 ± 0,01 <sup>a</sup>	46,45 ± 0,08 <sup>b</sup>	71,15 ± 0,02 <sup>e</sup>	51,33 ± 0,02 <sup>d</sup>	48,19 ± 0,06 <sup>c</sup>
C16:1	7,60 ± 0,00 <sup>d</sup>	5,49 ± 0,03 <sup>c</sup>	4,36 ± 0,16 <sup>a</sup>	4,83 ± 0,07 <sup>b</sup>	4,75 ± 0,01 <sup>b</sup>
C17:0	0,32 ± 0,00 <sup>d</sup>	0,24 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,01 <sup>e</sup>	0,16 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,01 <sup>c</sup>
C17:1	0,21 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,50 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,18 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,13 ± 0,01 <sup>a</sup>
C18:0	3,33 ± 0,16 <sup>e</sup>	1,67 ± 0,04 <sup>d</sup>	1,42 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,10 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,03 <sup>a</sup>
C18:1n-9	4,71 ± 0,23 <sup>b</sup>	4,73 ± 0,18 <sup>b</sup>	4,02 ± 0,19 <sup>a</sup>	5,23 ± 0,01 <sup>c</sup>	5,99 ± 0,04 <sup>d</sup>
C18:2n-6	20,15 ± 0,00 <sup>c</sup>	19,26 ± 0,02 <sup>b</sup>	7,86 ± 0,22 <sup>a</sup>	18,94 ± 0,22 <sup>b</sup>	19,82 ± 0,07 <sup>c</sup>
C18:3n-6	4,32 ± 0,01 <sup>b</sup>	4,22 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,73 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,19 ± 0,00 <sup>b</sup>	4,50 ± 0,04 <sup>c</sup>
C18:3n-3	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>c</sup>
C20:0	15,12 ± 0,03 <sup>d</sup>	15,71 ± 0,16 <sup>e</sup>	3,75 ± 0,11 <sup>a</sup>	10,24 ± 0,14 <sup>b</sup>	11,65 ± 0,01 <sup>c</sup>

C20:3n-6	ND <sup>a</sup>	0,29 ± 0,00 <sup>b</sup>	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>
C24:1	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	ND <sup>a</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>b</sup>	ND <sup>a</sup>

Les exposants avec différentes lettres sont significativement différents à  $p < 0,05$ . ND signifie 'non détecté'

Une notre étude de **Xue et al., 2002** a analysé la composition en acides gras de *Spirulina platensis*. Le tableau ci-après présente la composition détaillée en lipides totaux et des 3 glycolipides (Tableau11 )

**Tableau 11 : Composition en acides gras des lipides totaux et des lipides polaires chez *Spirulina platensis* (Xue et al., 2002)**

<i>Acides gras</i>	<i>Lipides totaux</i>	<i>SQDG</i>	<i>MGDG</i>	<i>DGDG</i>
	%	%	%	%
14:0	0,1±0,1	0,2±0,2	0,2±0,1	0,3±0,1
16:0	45,6±3,5	56,1±6,5	42,0±5,5	40,4±2,5
16:1 n-9	2,6±0,3	0,2±0,1	2,5±0,1	2,4±0,5
16:1 n-7	5,3±0,3	2,3±0,3	5,3±1,2	5,9±1,3
16:2 n-9	3,3±0,5	-	0,3±0,3	0,4±0,2
16:3 n-6	0,4±0,2	0,3±0,1	0,3±0,2	0,6±0,2
17:0	0,1±0,1	0,4±0,2	0,1±0,1	0,2±0,1
17:1 n-9	0,3±0,1	0,6±0,2	0,2±0,1	0,2±0,2
Iso 18:0	0,3±0,1	0,6±0,3	0,2±0,2	0,3±0,3
17:3 n-6	0,2±0,1	-	0,3±0,2	0,3±0,1
18:0	0,7±0,2	1,2±0,4	0,7±0,2	0,8±0,3
18:1 n-9	1,8±0,3	4,3±0,5	1,7±0,3	1,0±0,2
18:1 n-7	0,3±0,2	0,8±0,5	0,7±0,5	0,6±0,2
18:2 n-6	17,6±2,3	28,3±4,2	9,3±1,5	11,0±2,1
18:3 n-6	20,3±3,0	3,6±0,5	30,9±5,1	29,7±3,6
20:2 n-6	0,1±0,0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,6±0,2
20:3 n-6	0,6±0,1	0,4±0,2	0,7±0,2	0,7±0,3
C <sub>20</sub> PUFA	0,4±0,1	0,2±0,1	1,0±0,3	1,2±0,5

monogalactosyl diacylglycérol (MGDG), digalactosyldiacylglycérol (DGDG), sulfoquinovosyldiacylglycérol. (SQDG)

Les cinq souches ont présentées une variation significative en teneur des acides gras. Le principal AG présent en quantité importante pour toutes les souches de spiruline est l'acide palmitique (AP, 16: 0) avec une moyenne de 43,60 ; 46,45 ; 71,15 ; 51,33 et 48,19% pour,

respectivement, Spirulina 1, 2, 3, 4 et 5 (Aouir, 2017). Le taux le plus élevé d'AP est observé dans la Spirulina 3. Alors que, de tous les glycolipides isolés de la spiruline l'acide palmitique (C16:0) représente plus de 40 % de acides gras totaux (Xue et al., 2002). Selon Bhakar et Pabb, 1987, ceci pourrait être expliqué par un manque de phosphore dans le milieu de croissance

L'acide stéarique (AS, C18: 0) a montré des valeurs 3,33 et 0,69 %, respectivement pour la spiruline 1 et 5. La teneur la plus élevée en AS (2,76 %) a été obtenue chez la spiruline cultivée dans un milieu à une température de 30 °C. La teneur en acide oléique (AO, 18: 1n-9) dans les échantillons se situe entre 4,02 et 5,99 %, soit à peu près dans les intervalles (5-16 %) et (1-15,5 %) rapportés respectivement par Hudson et Karis, 1974 et Habib et al., 2008.

Les teneurs d'acide arachidique (AA, 20: 0) dans les souches étudiées sont élevées avec une variation significative ( $p < 0,05$ ) allant de 10,24 à 15,71 %. Cependant, la spiruline 3 présente une teneur plus faible d'AA (3,75 %)

Il faut aussi noter la présence d'acide gamma-linolénique (C18:3 n-6) en quantité relativement élevée (20,3%), et de l'acide linoléique (C18:2 n-6) avec 17,6 % des lipides totaux (Xue et al., 2002)

Mühling et al., 2005, ont également remarqué que les conditions de croissance des microalgues pourraient affecter considérablement la teneur en acides gras. Par exemple, une forte intensité lumineuse et une température élevée favorisent l'accumulation d'AG saturés (Floreto et al., 1993) et (Van Wagenen et al., 2012). Alors que les faibles intensités de lumière et les basses températures favorisent la synthèse d'AGPI (Guschina, 2006).

Le tableau12 ci-dessous, présente la somme des acides gras mono insaturés (AGMI), polyinsaturés (AGPI) et saturés (AGS) dans les souches de *Spirulina* étudiées

**Tableau12 : AGS, AGMI, AGPI,  $\omega$ 3,  $\omega$  6 (en pour cent des lipides totaux (Aouir, 2017)**

Acides gras	<i>Spirulina</i> 1	<i>Spirulina</i> 2	<i>Spirulina</i> 3	<i>Spirulina</i> 4	<i>Spirulina</i> 5
$\Sigma$ AGS	62,94	65,66	80,31	66,17	64,54
$\Sigma$ AGMI	12,58	10,57	9,11	10,70	10,94
$\Sigma$ AGPI	24,48	23,77	10,59	23,13	24,52
$\Sigma\omega$ -3	0,01	-	-	-	0,20
$\Sigma\omega$ -6	24,48	23,77	10,59	23,13	24,32

\* Résultats n'incluent pas l'écart type.

Les résultats sont variés entre les souches, par exemple dans les AGS, les valeurs sont entre 62,94% pour la souche 1 et 80,30% comme valeur maximale marqué pour la souche 3. Alors que, les AGMI, ont marquant les valeurs les plus basse surtout se pour la souche 3 avec 9,11%.

Les AGPI, l'intervalle varié entre 24,48% et 10,59 % pour la souche 5 et souche 3 respectivement. Enfin, pour les valeurs d'oméga 3 et Omega 6 où la valeur la plus élevée pour ce dernier chez la souche 1 avec 24,48% et une baisse valeur toujours pour la souche 3 avec 10,59%.

Cependant, dans l'étude de Aouir, 2017, le rapport  $\omega$ -6 /  $\omega$ -3, n'a pas pu être défini en raison de l'absence des  $\omega$ -3 dans les spirulines étudiées. Les mêmes observations ont été signalées par d'autres auteurs **Kent et al., 2015 ; Capelli et Cysewski, 2010 ; Vo et al., 2015**

### V. Composition en éléments minéraux

La spiruline contient tous les minéraux essentiels (7% du poids sec). Selon le pH et la composition du milieu de culture, elle absorbe plus ou moins les minéraux d'où des teneurs variables. La spiruline est naturellement riche en certains minéraux essentiels, particulièrement importants lors de malnutrition

**Tableau 13 : Teneur en éléments minéraux et en métaux lourds en mg/kg de MS .**

Elément minéraux (mg/kg)	Donnée Shabana et Arabi (2012)	Donnée de Aouir, 2017									
		Spirulina 1		Spirulina 2		Spirulina 3		Spirulina 4		Spirulina 5	
Na	9000	9449	±1,57	13484	±0,40	8694	±0,77	3880 <sub>3</sub>	±3,01	3830 <sub>3</sub>	±0,52
Mg	4000	622	±0,20	1965	±0,04	2265	±0,01	1614	±0,08	1684	±0,01
Mn	50	13	±0,00	154	±0,02	32	±0,00	9	±0,01	13	±0,00
Fe	1000	759	±0,31	4256	±1,21	1300	±0,03	452	±0,41	407	±0,27
K	14000	7480	±1,17	8102	±1,05	6259	±0,51	7593	±0,97	7897	±1,37
Ca	7000	1947	±0,02	27426	±1,85	4139 <sub>2</sub>	±2,67	5376	±0,23	5196	±0,20
Zn	30	72	±0,00	441	±0,00	8	±0,00	164	±0,01	466	±0,02
Cu	12	7	±0,00	5	±0,00	3	±0,00	36	±0,01	45	±0,02
Cr	2,8	5	±0,00	19	±0,00	18	±0,00	17	±0,00	24	±0,01
Co	-	0	±0,00	8	±0,00	5	±0,00	3	±0,00	2	±0,00

<b>Ni</b>	-	5	±0,01	29	±0,01	20	±0,02	16	±0,04	19	±0,04
<b>Cd</b>	<= 0,5 *	0	±0,00	1	±0,00	0,8	±0,00	0,5	±0,00	0,6	±0,00
<b>Pb</b>	<= 5*	7	±0,00	13	±0,01	7	±0,00	5	±0,00	15	±0,01

**Normes de la spiruline en France** (Selon Arrêté du 21/12/1979) (Jourdan, 2011).

Selon les résultats d'**Aouir 2017**, présentés dans le tableau 13, la spiruline constitue effectivement une source importante d'éléments minéraux. Même si la quantité de ces éléments varie fortement d'une spiruline à une autre en raison des conditions physiques et chimiques de la croissance, nous pouvons les classer par ordre décroissant de la manière suivante : le sodium, le calcium, le potassium, le fer, le magnésium, Zinc, manganèse et cuivre.

Dans la littérature, beaucoup de travaux ont été réalisés sur la composition en éléments minéraux et métaux lourds de la spiruline et les données sont très variables d'une étude à une autre (Tokus, Oglu et Ünal 2003 ; Al-Homaidan, 2006 ; Capelli *et al.*, 2010 ; Al-Dhabi, 2013 ; Bensehaila *et al.*, 2015).

## VI. Composition microbiologique

L'étude sur la composition microbiologique est précédée par un examen macroscopique visuel qui a permis d'apprécier l'état général de contamination. Il en ressort que la spiruline 3 du Tchad, contient de nombreux débris d'origine diverse tels que, terre sèche, plumes d'oiseaux, débris de végétaux et restes d'insectes (Aouir, 2017).

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 14. Le pH des souches étudiées a été également mesuré à partir de solution préparée à 4% de poudre de spiruline

**Tableau 14 : Dénombrement de la microflore des souches étudiées**

<b>Flore microbienne UFC/g</b>	<b>FMAT</b>	<b>Coliformes</b>	<b>Levures/ Moisissures</b>	<b>pH à 20 °C</b>
<b>Souches</b>		<b>Totaux</b>		
<b>Spiruline 1</b>	10x10 <sup>4</sup>	Absence	< 10	8,37
<b>Spiruline 2</b>	10,31x10 <sup>4</sup>	< 10	< 10	8,67
<b>Spiruline 3</b>	14,37x10 <sup>6</sup>	5,3x10 <sup>2</sup>	< 25	7,35
<b>Spiruline 4</b>	10,5x10 <sup>4</sup>	< 10	< 10	9,28
<b>Spiruline 5</b>	10,30x10 <sup>4</sup>	< 10	< 10	9,82
<b>Normes Françaises</b>	10x10 <sup>4</sup>	< 10	< 10	7 à 9

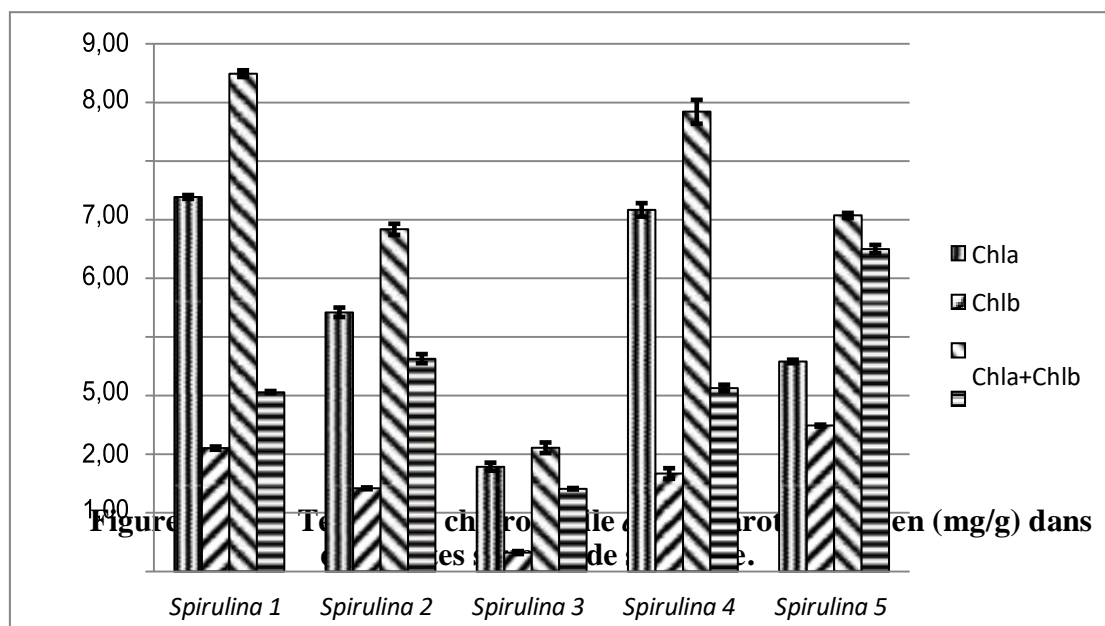
La souche 3 est classée sur dans la première place dans les valeurs de la flore microbienne où ce trouve les valeurs les plus élevées pour FMAT avec  $14,37 \times 10^6$ , coliformes totaux avec  $5,3 \times 10^6$ , levures et moisissures  $< 25$  et le pH pratiquement neutre avec 7,35.

Pour la flore mésophile et excepté *Spirulina* 3, les résultats de l'analyse microbiologique de toutes les poudres de spiruline répondent aux normes établies par les fermes aux USA (flore globale  $< 1 \times 10^6$ ), en France ( $< 1 \times 10^5$ ) et en Suède (flore globale  $< 1 \times 10^7$ ).

### VII. Composition phytochimique

#### VII.1. Teneur en chlorophylle a, b et caroténoïdes

Le graphe présente la comparaison de la composition en chlorophylles et caroténoïdes des différentes souches étudiées. (Aouir, 2017)



Les teneurs en pigments de *Spirulina platensis* selon l'étude de Goulamabasse, 2018 de sont résumés dans le tableau ci-dessous (tableau15 ).

**Tableau 15 : Teneurs en pigments exprimées en mg pour 10g de matière sèche de *Spirulina platensis***

PIGMENTS	TENEUR EN MG/10G
Chlorophylles totales	115
Chlorophylles a	61 - 75
Caroténoïdes (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500 - 2000
Phycoérythrine (rouge)	2900 - 10000

Les valeurs en quantité de chlorophylle a sont plus importantes que le chlorophylle b dans les cinq souche avec 6,39, 4,42, 1,79, 6,17 et 3,58 mg/g respectivement pour les spiruline 1, 2, 3, 4 et 5, avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) (Aouir, 2017). Alors que, les valeurs de chlorophylle a varient de 6.1-7.5 mg/g pour la spirulina étudiée par Goulamabasse, 2018

De plus, la teneur en chlorophylles totales a été mesurée en additionnant Chla et Chlb. Les spirulines 1 et 4 contiennent des valeurs moyennes significativement plus élevées en chlorophylle, respectivement de 8,49 et 7,84 mg/g. et une valeur plus élevée enregistré 11.5 mg/g dans l'étude de Goulamabasse, 2018.

La teneur en caroténoïdes est plus élevée chez *Spirulina* 5 (5,50 mg /g) que dans les autres échantillons. Ces valeurs sont similaires aux résultats rapportés par M'baye et al., 2011 qui situaient la gamme de caroténoïdes dans 51 échantillons de spiruline mauritanienne entre 5.43 et 8,93 mg/g.

## VII.2. Teneur en phycobiliprotéines

Les teneurs en phycobiliprotéines (qui captent l'énergie lumineuse vers les photosystèmes) sont régulées par l'intensité de l'éclairage. Les résultats sont présentés dans le tableau 16

**Tableau 16 : Teneur en phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) en (%), phycocyanine brute en (%) et pureté (Aouir,2017)**

Souches	C-PC	A-PC	PE	phycocyanin e	Pureté
<i>Spirulina</i> 1	8,70 ± 0,001 <sup>d</sup>	7,20 ± 0,001 <sup>e</sup>	2,80 ± 0,001 <sup>c</sup>	29,03 ± 0,001 <sup>d</sup>	1,80 ± 0,002 <sup>d</sup>
<i>Spirulina</i> 2	6,40 ± 0,001 <sup>b</sup>	3,10 ± 0,000 <sup>c</sup>	2,50 ± 0,000 <sup>c</sup>	21,36 ± 0,001 <sup>b</sup>	1,35 ± 0,001 <sup>b</sup>
<i>Spirulina</i> 3	1,80 ± 0,002 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,001 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,001 <sup>a</sup>	5,33 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,40 ± 0,007 <sup>a</sup>

<i>Spirulina</i> 4	5,90 ± 0,002 <sup>b</sup>	1,10 ± 0,001 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,001 <sup>b</sup>	19,86 ± 0,002 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,006 <sup>b</sup>
<i>Spirulina</i> 5	7,20 ± 0,001 <sup>c</sup>	5,10 ± 0,000 <sup>d</sup>	3,30 ± 0,001 <sup>d</sup>	24,18 ± 0,001 <sup>c</sup>	1,44 ± 0,005 <sup>c</sup>

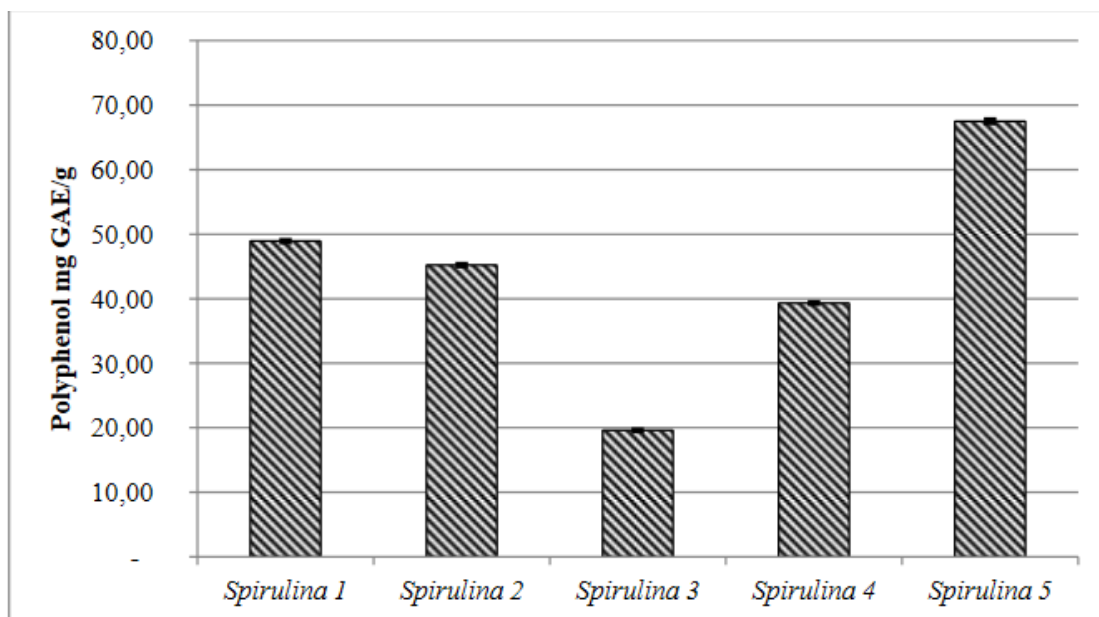
Les exposants avec différentes lettres sont significativement différents à  $p < 0,05$

Ce tableau présente Teneur en phycobiliprotéines (C-PC, APC et PE) en (%), phycocyanine brute en (%) et pureté

Les teneurs en phycoérythrine (PE) sont très faibles dans toutes les souches de spirulines étudiées. Spirulina 1 contient les plus hauts niveaux de C-PC et A-PC, respectivement avec une moyenne 8,7 et 7,2 %, suivie de Spirulina 5 (C-PC: 7,2%, APC: 5,1%), Spirulina 2 (C-PC: 6;4 %, APC: 3,1 %) et Spirulina 4 (C-PC: 5,9 %, APC: 1,1 %). Il est signalé que le plus haut taux de phycobiliprotéines (C-PC: 7,73%, APC: 3,46%, PE: 1,8%) a été obtenu lorsque la spiruline a été cultivée à une température de 35 °C et avec une intensité lumineuse de 2000 Lux

### VII.3. Teneur en polyphénols totaux

La figure 6 montre la teneur en phénols totaux des souches de Spirulina exprimées en équivalent d'acide gallique (GAE)



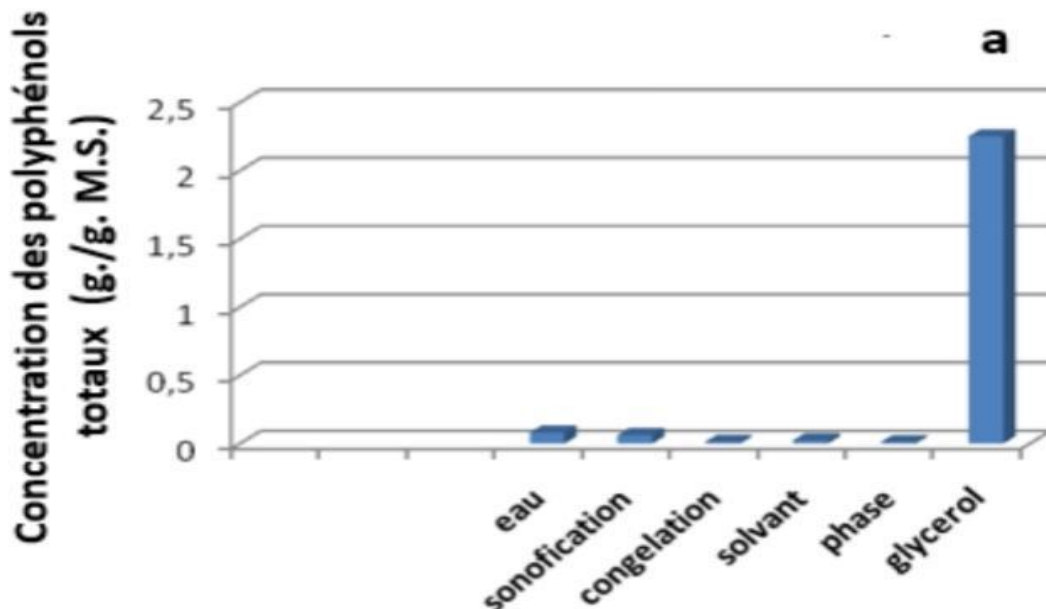
**Figure 6 : Teneur en polyphénols de différentes souches de spiruline (Arouir,2017).**

la Spirulina 5 présente la teneur en polyphénols la plus élevée avec 67,52 mg/g de poids sec suivi de Spirulina 1 (48,93 mg/g), Spirulina 2 (45,22 mg/g), Spirulina 3 (19,61 mg/g) et



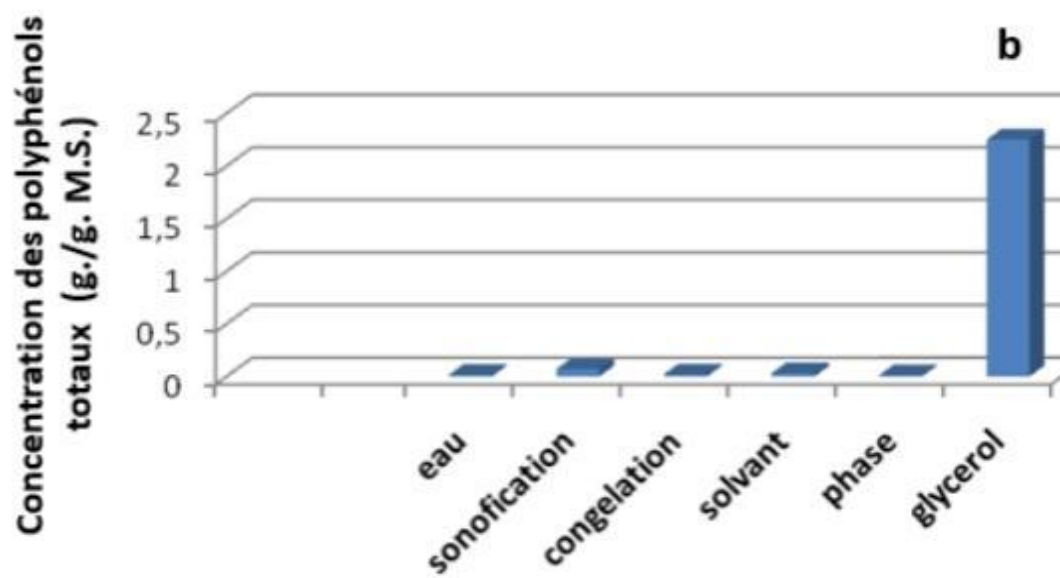
Spirulina 4 (39,33 mg/g). la teneur totale en phénol de ces espèces était respectivement de 2,41 et 2,05 mg/g de poids sec le taux le plus élevé de polyphénols (24 mg/g) a été observé dans des comprimés de spiruline obtenus auprès de la source Naturels)

**Lafri et al., 2017** qui regroupent les différentes concentrations selon les méthodes d'extraction, ils ont remarqué que la concentration des polyphénols totaux à partir des différentes méthodes d'extractions est comprise entre 4 et 22 mg/g de matière sèche pour la souche algérienne et 6 et 25 mg/g de matières sèches pour la souche tunisienne. Leurs résultats sont supérieurs à ceux obtenus par (**Moukette et al., 2015**). Toutefois elles ont noté que la concentration des polyphénols totaux la plus élevée est obtenue par la méthode d'extraction par glycérol (25 et



22 g/gms). Cependant la souche tunisienne a donné des valeurs supérieures en poly phénols par rapport à la souche algérienne (25 vs 22g/gms). Les concentrations obtenues sont plus faibles comparés par celle de travaux d'**Arouir, 2017**

Figure 7 : La concentration des polyphénols totaux issue de la Phycocianine (a) : Algérienne, (b) : Tunisienne (Lafri et al., 2017)



Depuis la nuit des temps, il existe sur Terre une source nutritionnelle et thérapeutique naturelle sans égale. Richesse protéique, acides aminés essentiels, acides gras essentiels, complexes vitaminiques multiples, fer biodisponible, activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales, immunomodulatrices, tout ceci condensé dans une simple algue bleue microscopique nommée *Arthrospiraplatensis*.

L'étude de la composition de la spiruline a permis de démontrer son extrême richesse en nutriments (principalement les protéines), en micronutriments tels que fer, Cu, Mn, ou encore en acides gras essentiels ( $\omega$ -6) et en composés bioactifs (C-PC, polyphénols et caroténoïdes). La présence de tous ces constituants réunis dans un seul et même microorganisme apporte à celui-ci une valeur nutritionnelle unique

Les exigences simples des microalgues pour leurs croissances rendent ces microorganismes extrêmement faciles à cultiver. La microalgue *A. platensis* (spiruline) peut croître en milieu naturel ou semi-naturel et en culture synthétique.

Dans ce dernier cas, la culture doit être contrôlée dans le but d'obtenir une production massive de biomasse d'une valeur nutritive élevée.

La culture en masse de *Spirulina* dans ce milieu permet d'obtenir une production de biomasse importante et similaire à celle obtenue dans le milieu synthétique de référence (milieu Zarrouk) caractérisée par une teneur en protéines élevée (57 à 70%) et des quantités modérées d'hydrates de carbones et de lipides.

La comparaison de l'efficacité des différents traitements (CEP en modes statique continu, ultrasons, congélation/décongélation) sur l'amélioration de l'extraction des phycobiliprotéines à partir de la microalgue *A. Platensis* n'avait jamais été étudiée auparavant. Cette étude montre que la technologie du CEP se révèle être une technologie prometteuse pour l'extraction des phycobiliprotéines, et ce en raison de ses multiples avantages : non thermique, rapide, ne nécessitant l'emploi d'aucun solvant ou de produit chimique et permettant une grande reproductibilité.

La technologie de culture en masse des Spirulines sur les eaux usées domestiques présente deux avantages :

- 1- La production d'une biomasse algale à haute valeur ajoutée (source de protéines, de vitamines, de pigments), pouvant être utilisées dans divers domaines d'applications, pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires.

2- La réutilisation et la valorisation des eaux usées domestiques qui représentent une source de nuisance pour l'environnement.

La spiruline est considérée comme un super aliment dans le monde en raison de ses propriétés nutritionnelles uniques. En plus d'être une source particulière de fer, c'est aussi l'une des meilleures sources de protéines végétales. Il est riche en minéraux et vitamines essentiels, et est l'aliment préféré dans le monde d'aujourd'hui pour lutter contre la malnutrition.

La spiruline contient également une variété de vitamines, notamment les vitamines A, E, D, K, B1, B2, B3, B6, B8, B9 et B12. Il est riche en fer, minéraux et oligo-éléments essentiels, offrant des avantages nutritionnels complets et diversifiés. Pour accomplir tout cela, il fournit des acides gras essentiels, de la chlorophylle, de la phycocyanine et de nombreux autres composés antioxydants.

Entrée Suppr Abou, A 1994. la Conquête du Désert, Biofutur, pp. 15-19

**Al-Dhabi, N.A. 2013**, Heavy metal analysis in commercial Spirulina products for human consumption. Sound Journal of biological sciences, 20(4), 383-388.8m

**Al-Homsidan, A. A. 2006**. Heavy metal levels in Saudi Arabian spirulina Pakistan J. Biol. Sci, (14), 2693-2695

**Anamika. P. Sandhya M. Richa Pawar, P.K. Ghosh., 2005** Purification and characterization conditions International Journal of Botany, vol. 5, p. 153-159,

**Anonyme, 2009**. NF V08-050 Avril 2009. Microbiologie des aliments-of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. Protein Expression and Purification, Vol. 40, p. 248-255

**Aouir, A., 2017**. Extraction des composés bioactifs de la spiruline par le champ de électrique pulsé école nationale agronomique, El Harrach, Algérie 212 p

**Apfelbaum, E. M., & Vorob'ev, V. S. 2009**. Correspondence between the critical and the Zenon-line parameters for classical and quantum liquids. The Journal of Physical Chemistry B, 113(4), 3521-3526

**Becker E W., 1995**. Microalgae biotechnology and microbiology Cambridge, UK. Cambridge univ.press. 293 PPM

**Belay, A. 2002** The potential application of Spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. J Am Nutraceutical Assoc, 5, 27-48

**Belay, A. 2007**. Spirulina (Arthrospira); production and quality assurance In Spirulina in human nutrition and health (pp. 15-40) CRC Press

**Bellisle, F., Thornton, S. N., Hebel, P., Denizeau, M., & Tahiri, M. 2010**. A study of fluid intake from beverages in a sample of healthy French children, adolescents and adults. European journal of clinical nutrition, 64(4), 350-355.

**Belkhamassi. H-Behnas S-Belala B.A 2017**. Les risques toxicologiques des compléments Alimentaires Université des Frères Mentouri Constantine Algérie p 23

**Ben-idir. A et Seddidi. I 2017**. Qualité physicochimique et microbiologique des compléments alimentaires LA WHEY et L'ISOLATE WHEY, Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B BA P65

**Bensehaila S, Doumandji A, Boutekrabt L, Manafikhi H, Peluso 1, Bensehaila K, Kouache A and Bensehaila A., 2015**. The nutritional quality of Spirulina platensis of Tamenrasset, Algeria. Afr. J. Biotechnol, vol. 14, n° 19, p. 1649-1654

, Cai Y.Z, Luo Q, Sun M., Corke H., 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci., vol. 74, p. 2157-2184

- Capelli, B., & Cysewski, G. R. 2010.** Potential health benefits of spirulina microalgae. *Nutrafoods*, 9(2), 19-26
- Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. 2001** Form-genus I. *Chemical Society*, 21(5): 921-926.
- Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. 2008.** La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Rapport d'expertise pour le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. P,34
- Ciferri, O. 1983** Spirulina, the Edible Microorganism *Microbial Rev.* Vol. 47-551-578 Cohen Z, Vonshak A, Richmond A., 1987 Fatty acid composition of Spirulina compléments alimentaires: LA WHEY et L'ISOLATE *Bot Mar*, vol. 36, p 149-158.
- Cruchot, H 2008.** La Spiruline, Bilan et Perspective. These de doctorat en pharmacie. Université de France-Comite p.332
- Delpeuch, F., Joseph, A., & Cavelier, C. 1975,** January Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoria platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad) In *Annales de la Nutrition et de l'Alimentation* pp. 497-516 CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
- Directive du Parlement Européen et du Conseil du 10 juin 2002** relative au rapprochement du Kanem (Tchad). *Ann. Nutr. Aliment*, 29, pp. 497-516. Dubois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P & Smith F. 1956, Colorimetric method for determinations of sugars and related substances. *Anal. Chem* P 280 350 356.
- Durand-Chastel-H. Doumange F... Toulemona, 1993** 'La Spiruline, Algue de Vie'. *Bull. Inst Ocean*, pp. 7-11 El Sherif, S. A. A. 1981 Contribution à l'étude de la culture d'algues spirulina en République Arabe d'Egypte: Recherche d'un site de production industrielle. *Institut Français du Pétrole* p 221
- El-Sheekh M.M., Fathy A.A., 2009.** Variation of some nutritional constituents and fatty acid profiles of *Chlorella vulgaris* Beijerinck grown under auto and heterotrophic conditions *International Journal of Botany* Vol 5, p:153\_159
- Farrar, W.V. 1966** *Techuitlatl, a Glimpse of Aztec Food Technology.* *Nature*. N° 5047 p 12
- Falquet, J. 1996. Spiruline: aspects nutritionnels. *Antenna Technologie*. Vol. 29, r de Neuchâtel CH-1201 Genève, Suisse. P. 1-16.
- Falquet J et Hurni J-P 2006.** Spiruline: aspects nutritionnels, *Antenna Technologies* p 1\_12
- Floreto E.A.T., Hirata H., Ando S., Yamasaki S., 1993. Effects of temperature, light *Food and*
- Fox, R. D. 1999. La spiruline technique, pratique et promesse *Edisud* 246 ISBN 2-7449-France, p. 455
- Agriculture*, vol. 25, p. 759-763. Fox, W., & Imbeau, L. M. 1999. *Statistiques sociales.* Presses Université Laval p 311
- ° Fox.D.R. 1996 *Algoculture: la Spiruline, un Espoir pour le Monde de la Faim'*, *Edisud*, p.260

- Geitler, L. 1932.** Cyanophyceae. In: Rabenhorst's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Leipzig, Akad. Verlagsges. 1932, Reprinted 1971, New York, Johnson p 1-1196
- Goulamabasse.T et Raza .M,2018,** La Spiruline activités thérapeutique et son intérêt dans la lutte contre la malnutrition a Madagascar université de l'île, faculté de pharmacie, 135p
- Guerraz, A. V. G., & Jocelyne Troccaz, P. C. 2002.** A haptic virtual environment for tele-echography. *Medicine Meets Virtual Reality 02/10: Digital Upgrades, Applying Moore's Law to Health*, 85, 166..
- Girardin-Andréani, C. 2005** Spiruline système sanguin, système immunitaire et cancer. *Phytotherapie*, 3(4), 158-161.
- Habib, M.A.B., Parvin, M., Huntington, T.C., Hasan, M.R., 2008.** A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, No. 1034, Rome, FAO.. 33p
- Houlbert A.2014** dossier Compléments alimentaires : Historique et grandes dates des compléments alimentaires,culture bio,p5\_6
- Hudson B.J.F., Karis L.G., 1974** The lipids of the alga *Spirulina*, *Journal of Science, human consumption Saudi. J BiolSci.* Oct; 20 (4): 383-388.
- Hocini.M A 2017** Production de la Spiruline en Algérie(*Arthrospiraplatensis*) et perspectives université Abdrrahmane MIRA\_Bejia p :3
- Jarisoa, T. 2005** Adaptation de la spiruline du sud de madagascar a la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'échelle villageoise. p. 188.
- Jourdan J.P., 2011.** «< Cultivez votre spiruline >> manuel de culture artisanale
- Jourdan, 2006.** Manuel de culture artisanale de spiruline. Edition 2006, Révision mars 2013 *Journal* 34: 156-164. 48
- Juárez-Oropeza, M. A., Mascher, D., Torres-Duran, P. V. Farias, J. M., & Pardes-Carbajal, M. C. 2009** Effects of dietary *Spirulina* on vascular reactivity *Journal of medical food*, 12(1), 15. 20 KAMBOU Sp, 2018, Paramètres physico-chimique et metabolites secondaire de spiro platensis (oscillatoriaceae), une algue produite et consommées en cote d'ivoire, revue Dio-Africa, N 17-2018, pp 25-33, EDUCI
- Kouache A & Benschaila A., 2015.** The nutritional quality of *Spirulina platensis* of Tamenrasset. Algeria. *Afr. J. Biotechnol*, vol. 14, a 19, p. 1649-1654
- Kent, M., Welladsen, H. M., Mangott, A., & Li, Y.2015** Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements *PloS one*, 10(2), 60118985
- Kone, M., Tuo, Y., Yapo, M. L., Sore, Y. A., Denso, N., & Kambou, B. 2018** Pratiques culturelles et diversité des insectes en cultures vivrières à Korhogo (Nord, Cote d'Ivoire) *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(6), 2644-2652

**Koru, E. 2012.** EarthfoodSpirulina (Arthrospira), production and quality standards Food caklitive, 191-202

Kumar, M., Kulshreshtha, J., & Singh, G. P. 2011 Growth and biopigment accumulation of cyanobacteriumSpirulina platensis at different light intensities and temperature. Brazilian Journal of Microbiology, 42, 1128-1135

Kjeldahl J., 1883 A new method for the estimation of nitrogen in organiccompounds. Z Anal Chem., vol. 22, p.

**366 Levi, Y., Harvey, M., & Cervantes, P. 2006.** Risques sanitaires liés à la présence de cyanobactéries dans l'eau: évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. Asset p.122 166

Lafri J, Jemni.M.Benschaila.S et BOUTEKRABT L2017, EVALUATIODEMETHODESD'EXTRACTION DE LA PHYCOCYANINEET SON RENDEMENT À PARTIR DE SPIRULINA PLATENSIS, Université de Blidal,p. 623-634

**Madkour FF, Kamil A, Nasr HS 2012** Production and nutritive value of Spirulina platensis in reducedcost media. Egypt. J. Aquat. Res. Vol. 38, p.51-57

**M'baye B.K., Lô B., Bassene E., 2011.**Etude quantitative de quelques pigments de la Spiruline cultivée en Mauritanie en vue d'une valorisation nutritionnelle. Int. J. Biol. Chem. Sci., vol. 5, n° 5. p. 2035-2038

**Moukette B., Pieme, C.A., NyaBiapa, P.C., Njimou, J.R. and Ngogang Yonkeu, 2015**Radicalsquenchingpotential, protective propertiesagainstoxidativemediated ion toxicity and HPLC phenolic profile of a Cameroonianspice Piper guineensis Toxicology Reports, 2:792-805 HPLC phenolic profile of a Cameroonianspice: Piper guineensis. Toxicology Reports, 2:792-805

Muhling, M., Somerfield, Harris, N., Belay, A. et Whitton, B. 2006. Phenotypic analysis n°2. Nutritionet de l'Alimentation; 30: p. 517-534

**Nazeri A, Massumi A, Wilson JM, Frank CM, Bensler M, Cheng J, Saeed M, Rasekh A, Razavi M.,2009** Arrhythmogenicity of weigh-losssupplementsmarketed on the Internet HeartRhythm. P:658-62.

**Nelissen B., Wilmotte A., Neefs J.M. and De Wachter R. 1994.** PhylogeneticrelationshipsNutr.

OuldBellahcen, TBouchabchob,A.Massoui.M,Elyachioui.M,2013Des culture et production de spirulina platensis dans les eaux uses domestiques, larhyssJournal, ISSN 1112-3680, n°14 pp. 107- 122

**Ou Y., Lin L., Yang X., Pan Q., Cheng X., 2013**Antidiabeticpotential of oxidativemediated ion toxicity and HPLC p. 1-231



- Park, J., Jang, S., Kim, S., Kong, S., Choi, J., & Lee, Y. H. 2008.** FT3FD: an informatics pipeline supporting phylogenomic analysis of fungal transcription factors, *Bioinformatics*, p: 1024-1025.
- Pal.R.&Chatterge.p.1988 'Use of Industrials Effluents for the Cultivation of Spirulina', *Journal of Botany*, p.89-93.
- Paris, L., Fillol, F., Pascal, S., Rousset, S., & Duclos, M. 2015. La santé 2.0: des outils de suivi de la nutrition et de l'activité physique en condition habituelles de vie. In 2. Assises Inter-Régionales de Nutrition et Métabolisme, Rhone-alpes-Auvergne pno 49
- Poortmans, J. R., & Francaux, M. 1998 Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. *The Lancet*, 352(9123), 234.
- Razavi, M. Nazeri, A., Massumi, A., Wilson, J. M., Frank, C. M., Bensler, M., Cheng, J.- & Razavi, M. 2009** Arrhythmogenicity of weight-loss supplements marketed on the Internet *Heart Rhythm*, 6(5), 658-662
- Pinta M., 1973.** Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux. Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par absorption atomique. *Oléagineux*, 28e année, p 2
- Rito-Palomares, M., Nunez L, and Amador, Roger P.A. 2006.** Les cyanobactéries: définition. Disponible sur : <http://pagespersorange.fr/cyanobacteries/pages/Introduction/definition.htm> Sautier J. 1975 Tremoilières, Valeur Alimentaire des Algues Spirulines chez l'Homme, *Ann. Nutr. Aliment*, pp. 517-534.. Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. M. 2013. Antiradical and antioxidant activities of different *Spirulina platensis* extracts against DPPH and ABTS radical assays. *J Mar Biol Oceanogr*. p2 14
- Satia JA, Littman A, Slatore CG, Galanko JA, White E 2009,** Long-term use of betacarotene, retinol, Lycopene, and lutein supplements and lung cancer risk: results from vitamins and lifestyle (VITAL) study *Am J Epidemiol* Apr 1. P 815 28.46
- Scheldeman P., Baurain D., Bouhy R., Scott M., Muhling M., Brian A.W., Belay A., 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, iss. 2, p. 213-222
- Sorto M, Gonnet J, 2007.** Pilot project for the development of the Dihé food chain source de protéines comestibles chez les Aztèques. *Cahiers de l'Agriculture*, 2: p. 283-287. Sguera, S. 2008.
- Spirulina platensis* et ses constituants: intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré) p 333
- Selmi, C., Leung, P. S., Fischer, L., German, B., Yang, C. Y., Kenny, T. P., ... & Gershwin, M. E. 2011** The effects of *Spirulina* on anemia and immune function in senior citizens. *Cellular & molecular immunology*, 8(3), 248-254.

- Singleton V.L.;** Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic*, vol. 16, p. 144- 158
- Tokus, Ö. Ünal M.K., 2003.** Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of food science*, vol. 68, n° 4, p. 1144-1148.
- Tomaselli L, 1997.** Morphology, ultrastructure and taxonomy. In: *Spirulina strains grown under various environmental conditions*. *Phytochemistry*, vol. 21:169(7):815-28.46
- Uniques.S 1983** 'Spirulina Production in Spain', *Bull. Inst. Ocean.*, 169, pp. 173.
- Van, D.w, 2001** Spirulina Production: an Indian Village Experience in Tamilnadu, *Bull. Inst. Ocean.*, pp. 187-190, 1993. 6
- Von der wiede, D 2011 Potential of Spirulina Platensis as a Nutritional Supplement *National Library of medicine* p:1 7
- Van Wagenen J., Miller T.W., Hobbs S., Hook P., Crowe B., Huesemann M. 2012.** Effects of light and temperature on fatty acid production in *Nannochloropsis salina*. *Energies*, vol. 5, p. 731-740.
- William .M, 1943** Dictionary of Bio-Chemistry and Related Subjects, Philosophical Library, P.311,530,573
- Xue.C, Yaqin. H. Hiroaki S Zhaohui Z, Zhaojie L, Yuepiao C, Changrong O, Hong L, Andrey B. 2002. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*, *Food Chemistry* :9-13 50
- Xu, Y. N., & Siegenthaler, P. A. 1996.** Phosphatidylglycerol molecular species in photosynthetic membranes analyzed by high performance liquid chromatography: theoretical considerations *Lipids*, 223-229
- Zacharia, Z. C., Olympiou, G. 2008, & Papaevripidou, M.** Effects of experimenting with physical and virtual manipulatives on students' conceptual understanding in heat and temperature, *Journal of Research in Science Teaching: The Official Journal of the National Association for Research in Science Teaching*, 45(9), 1021-1035.
- Zubiria L, 2009** Diététicienne-Nutritionniste Site web.passeportsante Rhythm p:658-62.
- Zarrouk. C. 1966** Contribution à l'étude d'une cyanophycée sur la croissance de la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Thèse Universitaire, Paris p:12 16.