الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الدكتور يحيى فارس المدية

Université Docteur Yahia FARES Médéa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de

L'obtention du diplôme de Master II en Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Optimisation de la lumière et la concentration de la biomasse pour la production de la chlorophylle et la phycocyanine chez une cyanobactérie (*Arthrospira platensis*) et l'étude de son effet antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire.

Présentées par :

Mlle YAGOUB Khoula & Mme CHAHAT Farah & Mlle BENYOUCEF Samia

Soutenue le :13 /07/2021 Devant le jury composé de :

Mr AINES.M	MCB	Université de Médéa	**Encadrant**
Mr CHAMI.B	MAA	Université de Médéa	**Président**
Mr OTHMANINE.K	MAA	Université de Médéa	**Examinateur**

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant tout, Nous remercions Allah le Tout Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail. Nous adressons nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui nous ont permis d'évoluer dans la réflexion et l'élaboration de ce travail. Nos remerciements s'adressent particulièrement à notre promoteur Mr. AINES MAHFOUDE pour avoir dirigé ce mémoire. Nous le remercions infiniment pour la confiance et le respect qu'il nous a toujours accordé et pour les idées qui nous ont beaucoup aidées à progresser. Sa haute compétence, ses qualités humaines, ses conseils judicieux ont été pour nous une source inestimable de réconfort et d'encouragements pour mener à terme ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à M.CHAMI BOUAZZA d'avoir accepté de présider ce jury. Que M.OTHMANINE KHALED Trouve ici le témoignage de nos profonds respects et de notre grande considération pour avoir accepté de juger ce mémoire. Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicaces

Je dédie Ce mémoire

À mes chers parents : ALI et MABROUKI KHEIRA. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive. A Mon Encadreur Mr. AINES MAHFOUDE. . Veuillez bien monsieur recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail. A mes chers collègues : FARAH et SAMIA. Merci pour touts les efforts que vous avez fait.

A mes adorables copines GALOS AMEL RANIA ; AMEL et NOUR.

Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des, sœurs. En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

A mes chers et adorable frères et sœurs : ISLAM, AZZELDINE, ASSIL, DIADINE, ET RITAL et n'obélie mes amoureuse ISRAA, DJINAN (djoudjou) , je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protége et vous garde. Et merci À toutes les personnes qui ont participé a L'élaboration de ce travail.

Khoula

Je dédie ce mémoire

Aux personnes les plus chères au monde, à mes très chers parents ABDERRAHMANE et FARIDA. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma profonde gratitude pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Que ce travail soit le fruit de vos prières et sacrifices, qui m'ont été d'un grand secours pour atteindre cette étape de ma vie, et que Dieu tout puissant vous procure santé, bonheur et longue vie. A Mon Frère TAHA. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec tout le bonheur qu'il faut pour vous combler. A toute ma famille et ma belle-famille. A mon cher mari ABDERRAHMANE SAIDANI pour son appui et ses encouragements. A mes chères amies SAMIA et KHOULA, avec lesquelles j'ai partagé ce travail. A toute la promotion de la 2eme Master microbiologie.

Farah

Je dédie ce travail

A l'être le plus cher de ma vie, ma mère Zohra.

A mon cher père Mohamed.

A mes frères Rabeh , khaled et Soheib .

A mes sœurs Rachida et Chaimaa.

A mes camarades Farah, Khoula et toutes mes amies.

A touts les membres de ma famille, toute personne qui porte les noms BENYOUCEF et SMAI et toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

Samia

Résumé

Arthrospira platensis aussi connue sous le nom de « spiruline » est l'une des cyanobactéries que Dieu Tout-Puissant a créé et déposé sur la terre depuis l'antiquité, ce microorganisme filamenteux est connu comme l'un des micro algues qui possède des nombreuses propriétés pharmacologiques et thérapeutiques grâce à leurs teneure en pigments photosynthétiques telle que la chlorophylle et la phycocyanine .

Lobjectif de ce travail est d'optimiser les paramètres du milieu qui conduit à des concentrationssignificatives en pigments (chlorophylle et la phycocyanine), on jouant sur deux facteurs principales, l'intensité lumineuse et la concentration en biomasse.

En premier lieu, l'intensité lumineuse utilisée est compris entre 1000 et 4000 lux , et en deuxième lieu la lumière est fixé en 2000 lux et la biomasse change.

La phycocyanine a été extraite par la méthode de congélation/décongélation avec l'utilisation de solvant phosphate de sodium.

Le chlorophylle a été extrais a l'aide d'éthanol, une concentration significative a été obtenue à 4000 lux .

L'effet antibactérien est détecté par la présences des zones d'inhibition, les diamètres qui ont été obtenus sont différents telle que : *S. aureus* a de diamètre significatif de 18 mm par contre, un diamètre modéré pour *P. aeruginosa* .

La phycocyanine a un pouvoir antioxydant modéré et un effet anti inflammatoire significatif dans le quelle l'effet inflammatoire de la caraginine est réduite.

Les mots clés :

Arthrospira platensis, cyanobactéries, , antibactérien antioxydant, anti inflammatoire.

Summary

Arthrospira platensis also known as "spirulina" is one of the cyanobacteria that Almighty God has created and deposited on the earth since antiquity, this filamentous microorganism is known as one of the microalgae which has numerous pharmacological and therapeutic properties thanks to their content in photosynthetic pigments such as chlorophyll and phycocyanin.

The objective of this work is to optimize the parameters of the environment which leads to significant concentrations of pigments (chlorophyll and phycocyanin), playing on two main factors, light intensity and biomass concentration.

Firstly, the light intensity used is between 1000 and 4000 lux, and secondly the light is fixed at 2000 lux and the biomass changes.

The phycocyanin was extracted by the freeze / thaw method with the use of sodium phosphate solvent.

The chlorophyll was extracted with ethanol, a significant concentration was obtained at 4000 lux.

The antibacterial effect is detected by the presence of zones of inhibition, the diameters which have been obtained are different such as: S. aureus has a significant diameter of 18 mm on the other hand, a moderate diameter for P. aeruginosa.

Phycocyanin has moderate antioxidant power and a significant anti-inflammatory effect in which the inflammatory effect of caraginin is reduced

---

ملخص

أرثروسبيرا بلاتنسيس المعروفة أيضًا باسم "سبيرولينا" هي واحدة من البكتيريا الزرقاء الموجودة منذ العصور القديمة ، يُعرف هذا الكائن الدقيق الخيطي بأنه أحد الطحالب الدقيقة التي لها العديد من الخصائص الدوائية والعلاجية بفضل محتواها في أصباغ التركيب الضوئي مثل الكلوروفيل والفيكوسيانين.
الهدف من هذا العمل هو تحسين عوامل الوسط مما ينتج عنه تركيزات كبيرة من الأصباغ (الكلوروفيل والفيكوسيانين) ، وتغييرعاملين رئيسيين ، شدة الضوء وتركيز الكتلة الحيوية.
أولاً، تتراوح شدة الضوء المستخدمة بين 1000 و 4000 لوكس ، وثانيًا يتم تثبيت الضوء عند 2000 لوكس وتتغير الكتلة الحيوية.
تم استخلاص الفيكوسيانين بطريقة التجميد / الذوبان باستخدام مذيب فوسفات الصوديوم.
تم استخلاص الكلوروفيل مع الإيثانول ، وتم الحصول على تركيز معنوي عند 4000 لوكس.
يتم الكشف عن التأثير المضاد للبكتيريا من خلال وجود مناطق التثبيط ، والأقطار التي تم الحصول عليها مختلفة مثل: S. aureus لها قطر كبير 18 ملم من ناحية أخرى ، وقطر معتدل لـ P. aeruginosa.
يحتوي Phycocyanin على قوة معتدلة من مضادات الأكسدة وتأثير مضاد للالتهابات يتم فيه تقليل التأثير الالتهابي للكاراجينين

الكلمات المفتاحية: أرثروسبيرا بلاتنسيس ، ، البكتيريا الزرقاء ، مضاد للأكسدة للبكتيريا ، مضاد للالتهابات.

Liste des figures

Figure 1 : La structure d'une cyanobactérie……..…….....4
Figure 2 : Cycle de vie de la spiruline……..7
Figure 3 : Un photobioréacteur plat……..….15
Figure 4 : Des photobioréacteurs cylindriques……...16
Figure 5 : Les photobioréacteurs tubulaires…….....17
Figure 6 : Les bassins ouverts raceway……...……...…...18
Figure 7 : Formules des chlorophylles a et b …….....…...21
Figure 8 : La structure globale de la phycocyanine……...……22
Figure 9 : Illustration de la chaine de transport des électrons de la photosynthèse oxygénique 24
Figure 10 : Illustration des différents transports alternatifs d'électron …….....25
Figure 11 : Évolution de la concentration en dioxygène à l'obscurité et à la lumière lors de la photosynthèse …….....27
Figure 12 : Observation d'une feuille d'élodée exposée à la lumière …….....28
Figure 13 : *Arthrospira platensis* sous microscope optique……....30
Figure 14 : Les cultures de la spiruline cultivées au laboratoire universitaire…….....31
Figure 15 : observation microscopique de spiruline à l'état frais à l'objectif x40…….....37
Figure 16 : La culture de spiruline sur le milieu Zarrouk……....38
Figure 17 : L'évalution de biomasse de la spiruline pendant 26 jours …….....39
Figure 18 : La teneur en phycocyanine des quatre flacons ……40
Figure 19 : Courbe représente la teneur en phycocyanine en fonction de l'intensité lumineuse.....41
Figure 20 : La teneur en phycocyanine en fonction de biomasse……....42
Figure 21 : Extraction de chlorophylle de la spiruline …….....42
Figure 22 : la teneur en chlorophylle en fonction de l'intensité lumineuse…….....43
Figure 23 : L'activité antibactérienne des extraits de spiruline vis-à-vis de *E.coli, S.aureus* et *P. aeruginosa*……...44
Figure 24 : la mise en évidence de potentiel antioxydant…….....46
Figure 25 : le pouvoir antioxydant de la phycocyanine……...47
Figure 26 : Le pouvoir antioxydant de la vitamine C……48
Figure 27 : L'évolution des épaisseurs des pattes des rats dans les 3 lots…….....50
Figure 28 : Les trois lots des rats……51
Figure 29: Gavage des rats de lot 2……...…..52

Liste des tableaux

Tableau I : Taxonomie récapitulative 6
Tableau II : Le taux de vitamines en 10g de la spiruline 9
Tableau III : Teneurs en pigment exprimé en mg pour 10g de matière sèche de Platensis ...10
Tableau IV: La composition chimique de milieu Zarrouk.....31
Tableau V : Composition chimique de la solution A5 32
Tableau VI : Composition chimique de la solutionB6.....32
Tableau VII : Les dilutions des extraits de la spiruline 34
Tableau VIII : Préparation des dilutions 36
Tableau IX : Evaluation de biomasse de la spiruline pendant 26 jours 38
Tableau X: La concentration de phycocyanine en fonction de l'intensité lumineuse.....41
Tableau XI : Variation des diamètres des zones d'inhibition.....46
Tableau XII : Lot1 Témoin négatif de l'effet phlogogène de la carraghénine.....49
Tableau XIII: Lot2 mis en évidence de l'effet anti inflammatoire de phycocyanine.....49
Tableau XIV : Lot 3 mis en évidence de l'effet phlogogène de la carraghénine 50

Liste des abréviations et nomenclatures

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µm : Micromètre

Abs extrait : absorbance de la concentration en test

Abs control : absorbance de tube control

$CaCl_2$: chlorure de calcium

Chll : chlorophylle.

$Co(NO_3)^2$: nitrate de cobalt (II)

$CuSO_4$: sulfate de cuivre(II)

D.O : densité optique.

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.

E : Escherichia

EDTA : acide éthylène diamine tétra-acétique

$FeSO_4$: sulfate ferreux

g : Gramme

H_3BO_3: acide borique

K_2HPO_4 : hydrogénophosphate de potassium

K_2SO_4: sulfate de potassium

Kg : Kilogramme

mg : Milligramme

$MgSO_4$: sulfate de magnésium

min : Minutes

ml : Millilitre

mm : Millimètre

$MnCl_2$: chlorure de manganèse(II)

MoO_3 : trioxyde de molybdène

Na_2WO_4 : tungstate de sodium

NaCl : Hydroxyde de Sodium

$NaHCO_3$: bicarbonate de sodium

$NaNO_3$: nitrate de sodium

NH_4VO_3 : vanadate d'ammonium

$NiSO_4$: sulfate de nickel(II)

nm : Nanomètre

P : Pseudomonas

PC : Phycocianine

PH : Potentiel d'hydrogène

Staph ou S. : Staphylococcus

T : temps

$Ti_2(SO_4)^3$: Titanium (III) Sulfate

U.V : Ultra violet

Vit C : Vtamine C

$ZnSO_3$: Zinc sulfite

% : Pour cent (pourcentage)

Table des Matière

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION.....1

Premiére partie : synthese bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur l'Artrospira

1.1. Définition…… ……2

1.2..Historique…….….....2

1.3. Distribution géographique dans le monde…….….....3

1.4. Caractéristique structural…….....3

1.5. Taxonomie d'*Arthrospira platensis*.....4

1.5.1. Spiruline……..…...4

1.5.2.Spirulina …….....5

1.5.3.Spirulina subsalsa, Spirulina major……..5

1.5.4. *Arthrospira*……..……...5

1.6. Cycle de vie de spiruline……..…..…6

1.7. Composition biochimique de spiruline……..…….....7

1.7.1. Les protéines…….…..…7

1.7.2. Les glucides……..…..…7

1.7.3. Les lipides……..…..8

- La fraction saponifiable…….....8
- La fraction insaponifiable……..……...8

1.7.4. Les vitamines…….….8

1.8. Les pigments photosynthétiques……...…9

1.8.1. Les chlorophylles……...……....9

1.8.2. Les phycobillines ……..……9

- Les phycoerythrines…….…...9
- Les phycocyanines…….….9

1.9. La Croissance……..10

1.10. L'aspect thérapeutique……...……...10

1.11. Déplacement……..11

Chapitre 2 : Les activités biologiques de la spiruline

1.1. L'activité thérapeutique de la spiruline……13

1.2. Activité antibactérienne……...…….13

1.3. Activité antivirale…….13

1.4. Activité antioxydant…….14

1.5. Activité anticancéreuse…….…14

2. Les systèmes de culture……...……14

2.1. Les photobioréacteurs plats ……...…..…...…...15

2.2. Les photobioréacteurs cylindriques…….…....…15

2.3. Les photobioréacteurs tubulaires…….. ..…..…...……16

2.4. Les bassins ouverts……..……..…..17

Chapitre 3 : Les pigments photosynthétiques

1.1. Introduction……..…19

1.2. Définition……..……..19

1.3. Chlorophylle a et b……...19

1.3.1. La chlorophylle a……...20

1.3.2. La chlorophylle b……...20

1.4. La phycocyanine……...21

1.4.1. Les propriétés physicochimiques de la phycocyanine…….....21

1.5. Le système photosynthétique…….……..23

1.5.1. La photosynthèse……23

1.5.2. La régulation de la photosynthèse…….....24

1.6. Les facteurs influençant les contenus cellulaires en chlorophylle…….…26

1.6.1. Influence des conditions du milieu…….…...26

- La lumière…….……...26
- La concentration en CO_2…….……..…27
- La température…….…..…...28
- Effet de la Production des glucides…….……..……...28
- Effet d'azote……...…….…….29

Dexième partie : partie expérimentalle

Matériel et méthodes

1.1. L'objectif d'étude…….....30

1.2. La souche…….…30

1.3. La culture……..……31

1.3.1. Les conditions de culture…….……..…….32

1.3.2. La préparation de milieu de culture…….....32

1.3.3. Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*…….……...33

- ✓ Examen microscopique……...…33

1.4. L'extraction de la chlorophylle……..…...…33

- ✓ Mode opératoire……..…..…...33

1.5. L'extraction de la phycocyanine……...….....34

1.6. L'effet antibactérien…….....34

1.6.1. La méthode de diffusion en gélose……...……...35

- ✓ Mode opératoire……...……35

1.7. L'effet antioxydant…….……...35

1.7.1. Préparation de la solution DPPH.....35

1.7.2. La préparation des dilutions et mesure des titres……..…..35

1.7.3. Mesure de l'absorbance ……...….....36

1.8.Étude du potentiel anti-inflammatoire du phycocyanine……...…….…36

Résultats et discussion

1.1Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*……...37

1.1.2. Examen à l'état frais……...37

1.1.3. Vérification de la croissance de Culture…..…….……..37

1.2. L'évolution de biomasse de spiruline……...38

1.3. La détermination de la teneure en phycocyanine …….....39

1.3.1. Intensité de la lumière……40

1.3.2 L'effet de concentration de biomasse sur l'accumulation de phycocyanine…….41

1.4. La détermination de la teneur en chlorophylle……..42

1.5. L'activité biologique de spiruline……...……..43

1.5.1. Evaluation de l'activité antibactérienne……..……44

1.5.2. L'activité antioxydant…….46

1.5.3. Effet anti inflammatoire de phycocyanine……..48

CONCLUSION……..53

LES ANNEXES

Références bibliographiques…….54

Introduction

Introduction

Le groupe des cyanobactéries, anciennement appelées algues bleues, compte parmi l'une des plus anciennes formes de vie sur Terre et constitue l'essentiel des bactéries capables de réaliser la photosynthèse avec production d'oxygène. Parmi elles existent le genre *Spirulina* ou *Arthrospira*, c'est une cyanobactérie filamenteuse dont fait partie une bactérie particulièrement intéressante dénommée *Spirulina platensis* (ou *Arthrospira platensis*) plus connue sous le nom de algue Spiruline. **(S.SGUERA, 2008).**

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

L'*Arthrospira* se développe naturellement dans les eaux alcalines de certains lacs en zones tropicales et subtropicales **(FOX ,1999)**. Pour couvrir la demande croissante, la spiruline doit être produite en grande quantité dans des bassins de culture en milieu synthétique tel que le milieu Zarrouk. Elle se présente généralement sous forme de trichome bleu-vert, mobile, enroulé régulièrement en spires larges et très ouvertes **(PELMONT, 1995)**.

La Spiruline contient des chlorophylles dont la chlorophylle a (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le β-carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine**. (Loïc Charpy,2008).**

Ce travail est focalisé sur l'optimisation des conditions de milieu de culture tel que : l'intensité lumineuse et de l'inoculum et de dépôt sur la production de la biomasse et al production des pigments photosynthétiques tel que : la chlorophylle et la phycocyanine. Deuxièment est de vérifier les effets thérapeutiques (effet antioxydant, anti-inflammatoire et antibactérien) des extraits obtenus des biomasses produits durant l'optimisation.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur l'Arthrospira platensis

1. Généralités sur l'*Arthrospiraplatensis*

1.1. Définition

La spiruline est une cyanobactérie spiralée de couleur bleu-vert photo-autotrophe. C'est un organisme procaryote qui partage avec les plantes la capacité d'effectuer la photosynthèse. À partir de composés minéraux, d'eau et de l'énergie lumineuse captée grâce à leur chlorophylle, elle fixe le co_2 et dégagent l'oxygène **(WHO, 1999).**

Ce micro-algue est considérée comme une ressource alimentaire non conventionnelle pouvant contenir jusqu'à 70% de protéines ; elle est riche en sels minéraux ; en oligo-éléments et en nombreuses vitamines (B1, B2, B12, E) **(Sall et *al*., 1999).**

Observable uniquement en milieu liquide et caractéristique du genre. C'est d'ailleurs de là que la Spiruline tient son nom. Par ailleurs, contrairement à certaines autres cyanobactéries (Anabaena, Nostoc), la spiruline ne possède pas les cellules spécialisées permettant la fixation de l'azote de l'air (hétérocystes). La longueur moyenne du filament est de 250 µm lorsqu'il a 7 spires et son diamètre est d'environ 10µm à 12µm. Mais les paramètres de l'hélice (épaisseur, longueur) ne sont pas toujours les mêmes selon les chercheurs qui étudient la Spiruline. **(Cruchot H, 2008).** En effet, elle est classée parmi les « algues bleu-vert », pour plusieurs raisons**(Cruchot, 2008) :**

- ✓ Son habitat aquatique;
- ✓ La présence d'un système photosynthétique producteur d'oxygène;
- ✓ Son aptitude à développer des biomasses importantes;
- ✓ Sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle).

1.2..Historique

La Spiruline est considérée par les biologistes, comme l'un des premiers "végétaux" apparus sur terre, il y a environ 3,5 milliards d'années **(Panigua J et *al*.,2007)**.

En 1492, Christophe Colomb la découvrit au Mexique, sous forme de petites galettes vertes séchées et le note dans son carnet de bord. Cortès, qui en ses mémoires décrit également vers 1521, la façon dont les aztèques la récoltaient et la consommaient. La spiruline a ensuite été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 **(Wittrock et *al*.,1844).**

En 1959, Brandilly, anthropologue et cinéaste, publie un article sur la spiruline : « Depuis des lustres, une tribu africaine du Tchad (les Kanembous) exploite la nourriture de l'an 2000 »

(Farrar, 1966). Elle restera une simple curiosité avant le 7ème congrès du pétrole en 1967 à Mexico, à l'occasion duquel des chercheurs de l'institut Français du pétrole rendirent compte de leurs travaux sur la spiruline **(Wittrock et *al*., 1844).**

1.3. Distribution géographique dans le monde

La Spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales **(Castenholz et *al*. ,2001).** Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe. **(Loïc Charpyet *al*., 2008).**

1.4. Caractéristique structural

Les spirulines sont des cyanobactéries. Ces dernières forment l'essentiel des bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène. Elles peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires; dans ce dernier cas, leurs cellules s'arrangent en amas de type colonies ou, le plus souvent, en filaments composés de cellules alignées. Ces filaments sont appelés trichomes. Ce sont de vrais procaryotes, des organismes dépourvus de membrane nucléaire malgré leur système photosynthétique proche de celui des eucaryotes car contenant de la chlorophylle a et un photosystème II (PS-II) **(Figure1).** La taille des cellules de cyanobactéries se situe généralement entre 1 et 10 microns. Leur paroi est de type Gram – négatif classique. Ce photosystème, ainsi que les pigments photosynthétiques, les pigments accessoires et les composants du transport d'électrons, sont inclus dans des membranes thylacoïdes comportant des granules dites « phycobilisomes». Ces granules contiennent en particulier un pigment essentiel au transport de l'énergie vers le PS-II, la phycocyanine qui est une protéine contenant un groupement prosthétique de type poly pyrrole et qui lui confère une couleur bleue, ainsi qu'une fluorescence rouge exceptionnellement efficace **(Ressources Éducatives Libres, 2017).**

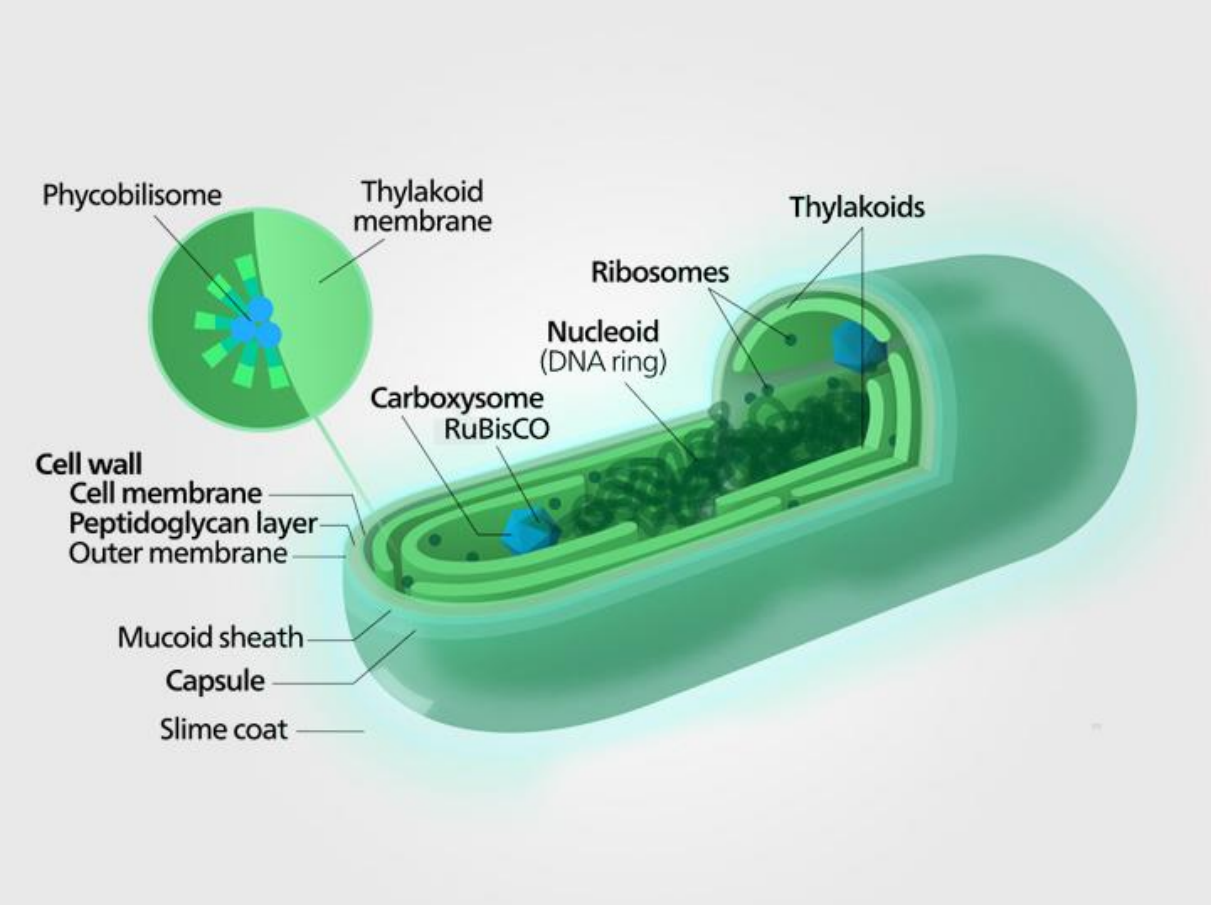


Figure1. La structure d'une cyanobactérie **(Ressources Éducatives Libres, 2017)**

1.5. Taxonomie d'*Arthrospiraplatensis*

Il existe une véritable confusion entre les termes *Spirulina*, Spiruline et *Arthrospira*. Ces troubles sur la nomenclature est aujourd'hui compliquée par la commercialisation du produit industriel *Arthrospira* sous le faux nom taxinomique Spiruline et ils résultent à la fois d'erreurs de détermination scientifique **(Scheldeman, P et *al.*,1999)** .Dans les années cinquante, et des noms commerciaux de certaines cyanobactéries alimentaires. Voici les définitions que nous utilisons

1.5.1. Spiruline

Nom commercial d'une cyanobactérie alimentaire appartenant toujours au genre *Arthrospira*.

1.5.2.*Spirulina*

Nom commercial anglais d'une cyanobactérie alimentaire appartenant toujours au genre *Arthrospira*.

1.5.3.*Spirulinasubsalsa, Spirulinamajor*

Nom Scientifique d'un genre de cyanobactérie assez éloigné des *Arthrospira*. On connait par exemple. Aucune cyanobactérie du genre *Spirulina* n'a été testée Scientifiquement sous l'angle de l'alimentation humaine. Il n'existe aucun commerce de cyanobactéries du genre *Spirulina*. Les Spirulines sont des cyanobactéries filamenteuses comparant plusieurs dizaines de cellules alignées d'une manière fortement spiralée.

1.5.4.*Arthrospira*

Nom Scientifique d'un genre de cyanobactérie assez éloigné du genre *Spirulina*. Le genre *Arthrospira* comprend l'ensemble des cyanobactéries alimentaires vendues sous le nom de Spiruline (*Spirulina* en anglais). Les scientifiques qui étudient la spiruline pensaient initialement qu'il existait de nombreuses espèces d'*Arthrospira*. Mais, (**Scheldeman et *al*.,1999)** ont analysés les caractéristiques génétiques de la spiruline en 1999 sur la base de l'ARDA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) et ils ont trouvés qu'il n'y avait que deux espèces d'*Arthrospira* (*platensis* et *maxima*). Ils supposent ensuite que ces deux espèces dérivent plusieurs souches **(Ahounou, M. N,2018)**. La SPIRULINE : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. **(Doctoral dissertation, Université de Rouen).**

De même, En 2009, Antenna technologies fondation, en collaboration avec l'université de Genève, ont effectués un travail de classification de différentes souches d'*Arthrospira*, leurs conclusion est qu'il n'existerait que deux espèces génétiquement différentes parmi ces souches, Ces deux espèces sont *Arthrospiraplatensis* initialement originaire du Tchad et *Arthrospirageitleri* ou *maxima* originaire du Mexique **(El khilifi. M,2020)**. Contribution a l'étude de la composition chimique de la spiruline *Spirulinaplatensis***(,Merceron M., 2006).**

L'espèce mexicaine *Arthrospira maxima*elle était mangée par les Aztèques du lac Texcoco avant la conquête de l'Espagne. Elle se caractérise par des trichomes de 70 à 80 µm de longueur, 7 à 9 µm de diamètre et des extrémités effilées **(Sguera. S, 2008)**.

Spirulinaplatensis et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques **(Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).**

L'espèce du Tchad *Arthrospiraplatensis*pousse naturellement dans les eaux tropicales ou subtropicales riches en carbonates et en bicarbonates, Elle se caractérise par des trichomes plus long (de 250-350 µm), 10 à 12 µm de diamètre et Les tours de spire diminuant légèrement vers les extrémités**.(Sguera.S,2008).**

Les cyanobactéries ont d'abord été considérées comme des algues jusqu'en 1962 et pour la première fois, ces algues bleues ont été ajoutées au procaryote. Elle appartient donc au domaine des bactéries .L'espèce qui nous intéresse est *Arthrospiraplatensis* et sa classification est indiquée dans le tableau suivant :

Tableau I. Taxonomie récapitulative **(Fox, 1999)**

Règne	**Monera ou Bacteria**
Sous-règne	Prokaryota
Phylum ou Division	Cyanophyta ou Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	*Arthrospira*
Espèce	*Arthrospiraplatensis*

1.6. Cycle de vie de spiruline

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées Nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies. Les Hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale **(Balloni et *al*., 1980 in Charpy, 2008)**

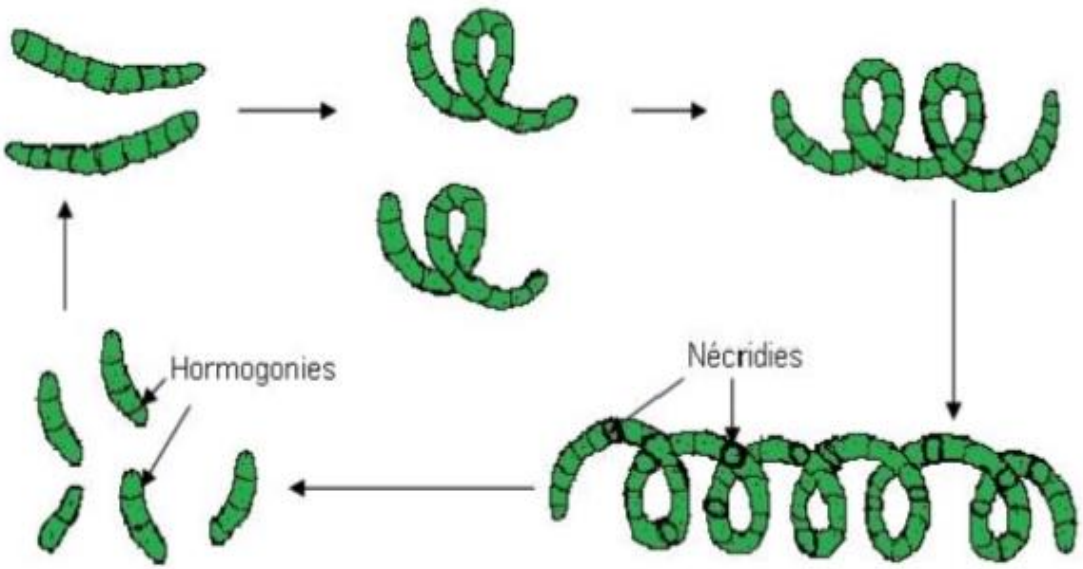


Figure2. Cycle de vie de la spiruline **(CHARPY et *al*.,2008)**

1.7. Composition biochimique de spiruline

La composition de la spiruline varie selon les conditions de culture, la période de récolte, l'origine géographique, le procédé de récolte, de séchage, de broyage, de conditionnement, mais aussi par le taux d'ensoleillement et par le fait que certains industriels supplémentent les milieux de culture afin que la spiruline produite soit plus riche en fer, en zinc ou encore en acides gras ,En général la spiruline est composée de 70% de protéines, 20% de glucides, 5% de lipides, 7% 19 de minéraux et de 3 à 6 % d'eau. **(Audrey Manet, 2016).**

1.7.1. Les protéines

Les protéines représentent entre 50 et 70% du poids sec, ces valeurs sont tout à fait exceptionnelles, même parmi les micro-organismes. D'un point de vue qualitatif, ces protéines sont complètes, car tous les acides aminés essentiels figurent, ils représentent 47% du poids total des protéines **(Bujard et *al*., 1996).** Parmi ces acides aminés essentiels, les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) **(Aychunie et *al*., 1996 ; Clement et *al*., 1967 ; Bujard et *al*., 1996)**.

1.7.2. Les glucides

Les glucides constituent globalement 15 à 25% de la matière sèche des Spirulines. L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1.9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9.7%) ou encore de glycogène (0.5%). Les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités (glucose, fructose et saccharose),

on trouve aussi des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol **(Ciferri, 1983; Flaquet, 2006).**

1.7.3. Les lipides

Les lipides de la spiruline qui représentent environ 5 à 6 % de son poids total, ce qui en fait un aliment pas très gras, mais ce pourcentage peut atteindre 11% selon les modes d'extraction ou la souche de spiruline utilisée **(All M.G et *al*., 1999)**. Un équilibre optimal entre les oméga-3 et 6, garant d'une bonne santé cardiovasculaire est observé **(Michka, 2005).** La matière grasse présente dans la spiruline se subdivise en deux fractions : une fraction saponifiable « ou acides gras » (83%) et une fraction insaponifiable (17%).

- **La fraction saponifiable**

Les acides gras font partie intégrante des lipides qui sont des nutriments indispensables au système nerveux, système cardiovasculaire et à la peau. Ils jouent un rôle énergétique et constituent au maintien de la chaleur corporelle. De plus, ils véhiculent les vitamines liposolubles (A, D, E, K) et contribuent à leur absorption. La fraction saponifiable, représentant 4,9 à 5,7% de la matière sèche de la spiruline, est essentiellement composée de monogalactosyldiglycéride et de digalactosyldiglycéride (23%), de sulfoquinovosyldiglycéride (5%) et de phosphatidyl glycérol (25,9%) **(Xue et *al*., 2002).**

- **La fraction insaponifiable**

La fraction insaponifiable est composée essentiellement de stérols, de terpènes, d'hydrocarbures saturés (paraffines) et de pigments. Cette fraction représente 1,1% à 1,3% de la matière sèche de la spiruline **(Michka, 2005).**

1.7.4. Les vitamines

La Spiruline contient une large gamme de vitamines, presque toutes les vitamines essentielles avec des proportions optimales. Les vitamines sont des composés organiques qui agissent en petites quantités et jouent un rôle important dans le fonctionnement normal du corps. La nourriture doit fournir quelques milligrammes ou pour certaines vitamines quelques microgrammes par jour. Le tableau suivant indique la teneur en vitamines de 10 g de spiruline **(Jung et *al*., 2019).**

Tableau II. Le taux de vitamines en 10g de la spiruline **(Jung. F et *al.*, 2019)**.

Vitamine	Teneur
Vitamine A	23000 mg
B-carotène	14 mg
Vitamine D	1200 mg
Vitamine C	0.8 mg
Vitamine E	1.0 mg
Vitamine K	200 µg
Vitamine B1	0.35 mg
Vitamine B2	0.40 mg
Vitamine B3	1.4 mg
Vitamine B5	10ug
Vitamine B6	60 µg
Vitamine B8	0.5 µg
Vitamine B9	1.0 µg
Vitamine B12	20.0µg

1.8. Les pigments photosynthétiques

1.8.1. Les chlorophylles

Les chlorophylles sont des pigments verts, présent dans tous les organismes photo autotrophe. Ce sont les pigments les plus important du processus photosynthétique, également appelé pigments photosynthétiques. Leur coloration verte est due au fait qu'ils absorbent fortement le bleu et le rouge alors qu'ils réfléchissent le vert. Dans les plantes supérieurs, on retrouve deux types de chlorophylle la chlorophylle a et la chlorophylle b.

1.8.2. Les phycobillines

Les phycobillines sont des pigments principalement présents chez les algues rouges et les cyanobactéries. Comme les caroténoïdes, ce sont des pigments accessoires transférant l'énergie vers les chlorophylles. Ils sont divisés en deux grands groupes :

- **Les phycoerythrines**Caractérisées par une coloration rouge.
- **Les phycocyanines** donnant une coloration bleue et émettant une fluorescence rouge.

Ce pigment bleu avait « faussement » donné le nom d'algues bleues aux cyanobactéries**(https://www.bioutils.ch/protocoles/21-les-pigments)**

Tableau III . Teneurs en pigment exprimé en mg pour 10g de matière sèche de *Platensis*.

Pigment	Teneur en mg
Phycocyanine (bleu)	1500-2000
Phycoérythrine (rouge)	2900-10000
Chlorophylle a (vert)	61-75
Caroténoïdes (orange)	37

1.9. La Croissance

Grâce à ses pigments chlorophylliens, la spiruline est une espèce photoautolitotrophe aérobie. Par conséquent, contrairement aux bactéries photo autotrophes anaérobies qui n'ont que le photosystème I, elle est dotée des photosystèmes I et II Chez la spiruline, la photosynthèse constituant la clé de sa croissance **(Merceron M., 2006)**.

1.10. L'aspect thérapeutique

Ce micro-organisme contenant de nombreux éléments importants telle que les protéines, les vitamines, la phycocyanine le fer et le bêta-carotène avec des quantités exceptionnelles. De nombreux avantages pour la santé résultent de sa richesse, elle possède des propriétés anti-inflammatoire, immun modulateurs, antiviral, antibactérien et antianémique, elle nous offre également des effets sur le cancer, le diabète et l'obésité **(Banakar, et *al*., 2020).**

L'*Arthrospira*a la capacité d'augmenter le pouvoir immunitaire pour lutter contre les infections virales, elle a aussi une activité potentielle contre les virus à ARN enveloppé, c'est pourquoi elle peut être utilisée comme stimulateur d'immunité pour les personnes non infectées afin deprévenir les infections du SARS-CoV-2. Elle peut donc être utilisée contre le nouveau coronavirus à titre préventif **(ElayaPerumal, 2020)**.

La dose quotidienne qui pourrait aider à contrôler le coronavirus a été suggérée de 15g de spiruline chaque jour **[ElayaPerumal, U., &Sundararaj, R.,2020)**.

Une autre recherche sur les composés bioactifs provenant de diverses sources alimentaires y compris le phycocyanobiline, pour prédire les inhibiteurs potentiels de covid-19, les résultats de l'amarrage ont révélé que la phycocyanobiline est prédites comme un composé bioactif potentiel pour traiter le COVID-19 **(Pendyala, B., & Patras, A.,2020)**.

1.11. Déplacement

La spiruline est capable d'effectuer deux types de déplacement :La motilité et la flottabilité Le trichome exerce un mouvement oscillatoire, de forme hélicoïdale, en rotation autour du grand axe. La spiruline peut donc évoluer dans l'eau en se vissant ; ce déplacement s'effectue à la vitesse de 5µm par seconde. La microscopie électronique a permis de comprendre la motilité des filaments : cette technique met en évidence l'existence de fimbriae de 2 à 10 nm de diamètre et 1 à 2 µm de longueur ; ces filaments tubulaires dépassent de minuscules pores situés sur le pourtour des extrémités de la cellule. Les fimbriae sont aplatis contre la paroi cellulaire externe et pointent dans la même direction. Comme des rameurs sur une galère, ils propulsent le filament d'arrière en avant **(DoumengeF,et*al*., 1993).**

La spiruline peut également fabriquer des vésicules de gaz d'environ 70 nm de long et 10 nm de diamètre, faites d'une chaîne de protéines tissées. Ces vésicules ressemblent à des tubes creux cylindriques comportant des capuchons coniques. Elles se trouvent habituellement près des parois terminales des cellules et sont empilées les unes sur les autres. Elles se forment et se remplissent de gaz lorsque la lumière du soleil apparaît : tels des ballons dirigeables, elles permettent au filament de spiruline de remonter en surface pour recevoir la lumière et ainsi commencer la photosynthèse **(Fox D,1999).**

A la fin du jour, les cellules sont surchargées par les grandes quantités d'hydrates de carbone fabriquées, lesquels engendrent une haute pression osmotique interne. Ne pouvant plus supporter cette pression, les vésicules implosent. Le gaz libéré est compressé et absorbé par les fluides environnants. Les vésicules s'effondrent et le filament de spiruline redescend vers le fond obscur. Pendant la nuit, grâce au phénomène de respiration précédemment décrit, la majeure partie des hydrates de carbone accumulés est convertie en protéines, pendant que du CO_2 est perdu. Pour recommencer un cycle de photosynthèse le lendemain, de nouvelles

Vésicules de gaz se forment de sorte que les filaments de spiruline soient à la surface de l'eau avant l'aube **(Fox D,1999)**.

Par conséquent, on peut en déduire qu'une limitation en CO_2 augmente la flottabilité alors que la production d'hydrates de carbone la diminue. Ces deux méthodes de locomotion permettent à la spiruline de se protéger elle même contre une overdose mortelle de soleil. Les mouvements de circulation de bas en haut puis de haut en bas lui permettent d'absorber la juste quantité de lumière dont elle a besoin. Elle est aussi capable de ramer hors de la dangereuse spire de ses compagnes qui flottent toutes en masse, dès le lever du jour.

Chapitre II

Les activités biologiques de la spiruline

1. Les activités biologiques de la spiruline

1.1. L'activité thérapeutique de la spiruline

De la valeur nutritionnelle exceptionnelle de la spiruline, découlent de multiples applications thérapeutiques dont les plus importantes sont :

- Le traitement des carences nutritionnelles (malnutrition protéino-énergétique, anémie ferriprive et hypovitaminose) ;

- Le renforcement des défenses immunitaires (une opportunité pour lutter contre les maladies opportunistes) ;

- Le traitement de certaines affections dermatologiques.

- Elle constitue également un partenaire efficace pour calmer les douleurs rhumatismales et l'arthrose, la lutte contre l'ostéoporose, l'excès de cholestérol, l'hypertension, et les allergies. Elle protège le cœur et augmenterait la régénération des cellules cérébrales **(Evoli conseil, 2014).**

1.2. Activité antibactérienne

Certaines études préliminaires in vitro d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (E. coli et S. aureus) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace **(Qureshi et Hunter, 1995)**. Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques **(Al-ghanayem, 2017)**. Les résultats des différents extraits de spiruline sur diverses bactéries n'ont pas permis à ce jour de définir une substance antibactérienne particulière mais un spectre d'action qui serait un support pour démontrer le potentiel de cette activité sur quelques germes pathogènes **(Kaushik et Chauhan,2008)**.

1.3. Activité antivirale

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

ce processus **(Andreani, 2011)**. L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité in vitro des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-l **(Yougbare, 2007)**. Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer **(Andreani, 2011).**

1.4. Activité antioxydant

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

1.5. Activité anticancéreuse

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que la bêta-carotène, un des antioxydants implanté dans la spiruline, pourrait inverser le processus cancéreux et inhiber le déploiement des cellules cancérigènes. Une de ces analyses confirmatives du résultat fut élaborée avec des personnes qui avaient une leucoplasie buccale (état précancéreux de la bouche). Ces derniers, ont montré après une prise quotidienne d'1g de spiruline pendant un an une amélioration de leur état et réussirent à arrêter le développement de la pathologie. La phycocyanine intervient aussi dans cette activité en s'attaquant aux radicaux libres responsables du cancer **(Vidalo, 2015).**

2. Les systèmes de culture

Deux systèmes de culture sont appliqués pour la production des cultures algales : les bassins ouverts et les photobioréacteurs.

La production des cultures par les bassins ouverts est largement exploitée à grand échelle, ils sont moins couteux mais limités par leur faible productivité qui ne dépasse pas 0.5g/L/J.

Les photobioréacteurs sont des systèmes de production clos à parois transparentes, ils sont plus performants que les bassins ouverts de part de vue de productivité. Différents systèmes proposés dans le domaine d'agriculture.

2.1. Les photobioréacteurs plats

Un photobioréacteur plat se compose de deux panneaux parallèles transparents pour laisser passer la lumière, de surfaces variables et entre lesquels réside une mince couche de culture d'une profondeur (épaisseur) de quelques centimètres.



Figure 3. Un photobioréacteur plat.

2.2. Les photobioréacteurs cylindriques

Un photobioréacteur cylindrique se compose d'un ou plusieurs tubes transparents, de diamètres et longueurs variables, de configurations diverses et au sein desquels circule la culture.

Pour les photobioréacteurs cylindriques, les variantes de configuration sont multiples **(Tredici, 2004)** un tube large et vertical formant une colonne.

Deux tubes de diamètres différents agencés l'un dans l'autre formant une chambre annulaire :

- Un tube placé au sol et de diamètre modéré mais de longueur importante agencé sous forme de serpentin,
- Un tube de petit diamètre et de longueur importante enroulé hélicoïdalement autour d'une tour, plusieurs tubes de petit diamètre agencés parallèlement et à la verticale. Les photobioréacteurs cylindriques sont largement répandus car leur conception est simple et facile à redimensionner vers des volumes importants de plusieurs centaines de litres (**Tsygankov,2001)**, ci-après, plusieurs de ces photobioréacteurs sont décrits et illustrés.



Figure 4.des photobioréacteurs cylindriques.

2.3. Les photobioréacteurs tubulaires

Le photo-bioréacteur tubulaire est une association de plusieurs tubes transparents en plastique ou en verre. La source de lumière peut être naturelle ou artificielle. Ce milieu clos et hermétique évite les contaminations extérieures et permet la production de biomasse à large échelle **(Pulz, 2001 ; Carvalho et *al.*, 2006).** L'injection d'air permet de fournir du carbone sous forme de CO_2, de brasser le milieu et d'évacuer les poches d'oxygène toxique pour les micro-algues. Dans le cas de la lumière naturelle, l'arrangement des tubes se fait souvent du nord vers le sud pour assurer un ensoleillement maximal et parallèle ou horizontal pour que chaque tube puisse recevoir le même taux d'ensoleillement **(Sánchez Mirón et *al.*, 1999).** La lumière artificielle des PBR est techniquement réalisable mais elle représente un coût important comparé à la lumière naturelle. Le contrôle de la température est un élément important à prendre en compte pour les photo-bioréacteurs. Un système d'échangeur de chaleur est nécessaire pour refroidir le milieu de culture qui est recyclé.



Figure 5. les photobioréacteurs tubulaires – Université de Wageningen AlgaeParc **(http://www.sustainableguernsey.info).**

2.4. Les bassins ouverts

Les systèmes de culture en milieu ouvert (bassins, « raceways », cuves), sont des étangs de recirculation en boucle fermée avec une profondeur de quelques dizaines de centimètres, sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial (Figure 6). Le mélange et la circulation du milieu sont possibles grâce à une roue à aube et un bullage permet un apport en CO_2. La température du milieu fluctue selon les cycles diurnes (nuit) et saisonniers. Toutefois peu d'espèces de micro-algues peuvent être cultivés en milieu ouvert de manière mono-spécifique. Pour toute culture en milieu ouvert la principale contrainte est le risque de contamination par d'autres espèces de micro-algues ou d'autres microorganismes comme des bactéries. Les rendements atteints avec ces systèmes ne sont pas optimaux à cause de la difficulté à contrôler les facteurs environnementaux (hauteur de la lame d'eau, échauffement du bassin, phénomènes d'évaporation, etc.). La concentration en biomasse pour ce type de culture est généralement peu élevée car l'agitation du milieu est faible et des zones non agitées peuvent subsister.



Figure 6. Les bassins ouverts Raceway - Université de Wageningen AlgaeParc **(http://www. sustainableguernsey.info).**

Chapitre III

Les pigments photosynthétiques

1. Les pigments photosynthétiques

1.1. Introduction

Les cyanobactéries, premiers organismes photosynthétiques Apparues il y a environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, les cyanobactéries sont, avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur Terre **(Chorus I. and Bartram, 2006)**. L'apogée des cyanobactéries a duré de 2,5 à 1,5 milliards d'années quand les cellules eucaryotes apparurent. Selon la théorie endosymbiotique, les organismes eucaryotes photosynthétiques comme les algues et les plantes proviendraient d'une endosymbiose de plastes par des cyanobactéries. Cette théorie est soutenue par diverses similitudes structurelles et génétiques. Ainsi, des plastes issus d'une endosymbiose primaire contenant de la chlorophylle a et b et de pigments accessoires ont été retrouvés dans des algues vertes et des plantes. D'autres plastes, contenant de la chlorophylle a et des phycobiliprotéines, ont été retrouvés dans des algues rouges et des glaucophytes. Ces plastes ont probablement eu une origine commune. En effet, chez les algues rouges (Rhodophycées), on constate que les thylacoïdes possèdent des pigments accessoires, les phycobilines (phycocyanine et phycoérythrine), ce qui laisse penser que la bactérie symbiotique devait être une Cyanobactérie qui possédait ces mêmes pigments. D'autres algues, ont acquis leurs plastes à partir de ces formes par endosymbiose secondaire **(Prat R. et Vonarx V, 2008).**

1.2. Définition

La spiruline, dite algue bleue, c'est dû à l'existence de la phycocyanine, qui est le pigment le plus précieux de la spiruline, mais on voit du vert et parfois d'orange, sûrement, de nombreux autres pigments se trouvent dans la spiruline, tels que la chlorophylle et les caroténoïdes.

1.3. Chlorophylle a et b

La chlorophylle est un pigment de couleur vert caractérise les photosynthétiques connue par leur effet laxatif, normalisation de la sécrétion gastro-intestinale et l'ajustement de la pepsine, de plus elle permet au corps humain de capter le magnésium organique **(Manet. A ,2016).**

Contrairement à ce que nous savions, de nouvelles recherches ont prouvé que la spiruline contient les deux types de la chlorophylle, la chlorophylle de type a et la chlorophylle de type b, avec un taux très élevé, même par rapport à la chlorelle **(Rinawati.M et *al.*,2020)** une algue-vert a des propriétés nutritionnelles uniques et considérée comme l'une des sources les plus riches de chlorophylle. La structure de la chlorophylle est similaire à l'hémoglobine

humaine c'est pourquoi elle est appelée ‘le sang vert’. Au lieu de l’ion de fer dans l’hémoglobine, nous trouvons du magnésium dans la chlorophylle **(Manet.A, 2016).**

1.3.1. La chlorophylle a

La plus répandue, est présente dans tous les organismes capables d’effectuer la photosynthèse aérobie. C’est en 1910 que Willstätter **(Willstätter et *al.*, 1910)** propose la formule brute de la chlorophylle a. Il faut alors attendre 1940 pour que Fischer révèle sa constitution, et 1960 pour voir apparaître sa première synthèse totale réalisée par Woodward **(Woodward, et *al* 1960).**La configuration absolue des centres C(17) et C(18) de la chlorophylle a est établie en 1968 par Fleming **(Fleming, I., J. Chem. Soc. (C), 1968)** et Brockmann **(Brockmann.jr et *al*., 1968).**(figure7).

La chlorophylle a est présente dans le centre réactionnel ainsi que dans l’antenne captant la lumière (cf. photosynthèse)

1.3.2. La chlorophylle b

se différencie de la chlorophylle a par la présence d’un groupe formyle à la place d’un groupe méthyle en position C(7). Sa structure a été établie par corrélation chimique avec la chlorophylle a. La stéréochimie et l’alcool estérifiant des chlorophylles a et b (le phythol) sont identiques. La chlorophylle b est un pigment qui accompagne la chlorophylle a dans les prochlorophytes, les chlorophytes, les micromonadophytes et les plantes vertes. Ces dernières sont phylogénétiquement les plus évolués des organismes capables de photosynthèse. La chlorophylle b n’est présente que dans les complexes jouant le rôle d’antennes qui captent l’énergie lumineuse, contrairement à la chlorophylle a qui est aussi impliquée dans les centres réactionnels. Ainsi, un rapport approximatif à 1/3 de chlorophylle b pour le chlorophylle a peut généralement être mesuré dans les prochlorophytes, les algues vertes et les plantes vertes. Comme la chlorophylle b absorbe la lumière à des longueurs d’onde différentes de celles de la chlorophylle a, elle lui est complémentaire. En effet, elle permet aux organismes qui la possèdent d’utiliser plus efficacement l’énergie lumineuse du soleil. Ceci justifie sa présence exclusive dans le système d’antenne **(Scheer. H et *al*., 1991).**(figure7).

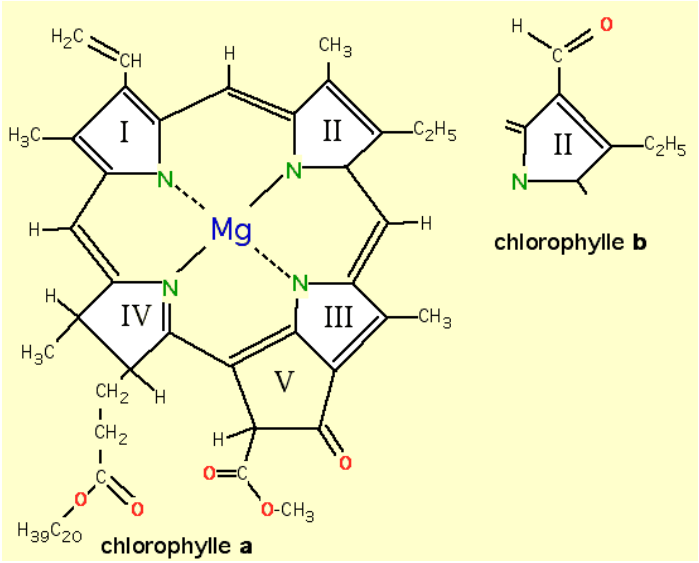


Figure7. Formules des chlorophylles a et b.

1.4. La phycocyanine

Joyau de couleur bleue, l'or bleu de la spiruline, la phycocyanine est le seul colorant bleu alimentaire naturel et le pigment le plus abondant de la spiruline qui représente de 12.6 à 20 % du poids sec **(Patel S, Goyal A,2013) (Romay, C.et *al.*, 1998).** Il est responsable avec la chlorophylle de la couleur bleue verte caractéristique de la spiruline. Ce pigment soluble dans les solvants polaires **(Hidayati, J.et al.,2020)** participe à la photosynthèse, car il absorbe et capture les photons, puis convertit cette énergie lumineuse en énergie électrochimique **(Boudour, A., 2008)** . A l'état naturel, la phycocyanine est emprisonnée dans une protéine complexe comprenant deux sous unités α et β qui sont composées de 162 et 172 acides aminés respectivement. La phycocyanine pourrait être utilisée comme pigment naturel pour les industries pharmaceutiques, alimentaires (la coloration des bonbons, des glaces, des produits laitiers, des boissons gazeuses... etc.) et cosmétiques (le fard à paupières, eye-liner, rouge à lèvres… etc.) afin de remplacer les pigments synthétiques maintenant utilisés qui la plupart d'entre eux sont considérés comme cancérigènes.

1.4.1. Les propriétés physicochimiques de la phycocyanine

Les groupements prosthétiques de la phycocyanine représentent 4% de la masse de l'algue, soit 16 chromophores par unité de masse moléculaire (Dalton)**(Romay C.,et *al.*,1998)** sachant que la masse moléculaire du monomère de phycocyanine est de 37468,5 Da (détermination par ionisation par éléctrospray couplée à une spectrométrie de masse). Ce monomère est composée de deux sousunités α et β de taille respective de 18186,56 et

19281,94 Da, et de trois chromophores de phycocyanobiline attachés à la sous-unité α (α 84) et à la sous-unité β (β 84, β 155)**(Bhat V.B.et *al*.,2000).** La phycocyanine peut se retrouver sous forme de mélanges complexes d'agrégats en tant que trimère (αβ)3, hexamère (αβ)6 et dodécamère (αβ)12. Selon le pH, la force ionique, la température et la concentration en protéines, la quantité relative de ces agrégats est variable. En général, la structure de la phycocyanine chez *Spirulina platensis* est formée de l'association de deux hexamères qui se font face formant une unité asymétrique. Au total sur cette unité asymétrique, 36 chromophores de phycocyanobiline sont liés par un pont thioéther à la partie protéique **(Wang X-Q et *al*., 2001)** La phycocyanine est le pigment le plus abondant de la spiruline représentant plus de 15 % de son poids. *Spirulina platensis* et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques - 8

Le spectre d'absorption de la phycocyanine montre une bande d'absorption forte à 615 nm et une seconde plus faible à 360 nm, ces deux bandes sont dues aux propriétés du chromophore bilin. Ces propriétés d'absorption aussi bien que la fluorescence du chromophore augmentent en intensité lorsque les structures secondaire, tertiaire et quaternaire de la protéine sont dénaturées. Ce groupe bilin est constitué du noyau tétrapyrrolique de la chlorophylle ouvert et sans magnésium. Constituant majeur du thylacoïde, l'hexamère de phycocyanine semble être le principal responsable des propriétés qui sont données à la spiruline. Il a donc fallu trouver des méthodes d'extraction pour pouvoir l'étudier de plus près.

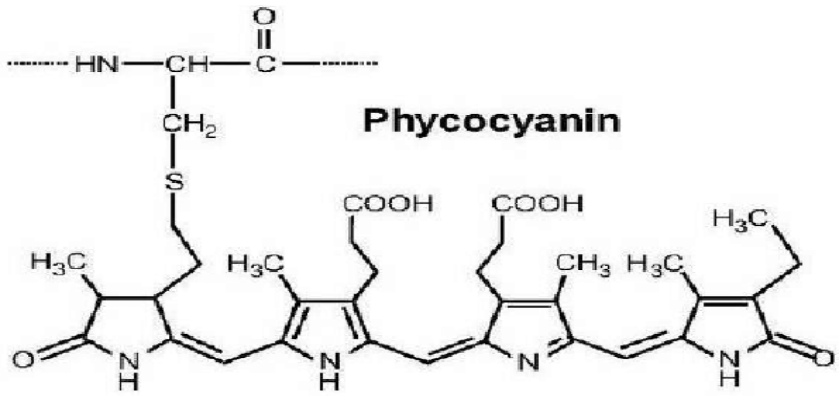


Figure 8. La structure globale de la phycocyanine**.(Zheng et *al*.,2013).**

1.5. Le système photosynthétique

1.5.1. La photosynthèse

La photosynthèse est le processus permettant la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique servant à synthétiser de la matière organique. Chez les eucaryotes, la photosynthèse se déroule dans le chloroplaste. Cet organite est délimité par une double membrane contenant le liquide intra-chloroplastique, ou stroma, ainsi qu'un réseau membranaire interne, le thylakoïde. Les thylakoïdes sont formés par des vésicules membranaires aplaties renfermant une phase aqueuse, ou lumen. Ils contiennent des pigments associés à des protéines et peuvent se trouver sous une forme empilée, les granas. La photosynthèse est une suite de deux phases. Une phase dépendante de la lumière, ou phase 'claire', se déroulant dans les thylakoïdes, suivie d'une phase non directement dépendante de la lumière se déroulant dans le stroma : la phase 'sombre'. Les réactions de la phase claire se déroulent dans les membranes des thylakoïdes. Elles permettent le transport linéaire et cyclique des électrons et la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique sous forme d'ATP et NADPH. Les réactions font intervenir plusieurs complexes membranaires, les photosystèmes 1 et 2 (PSI, PSII), leurs antennes collectrices de lumière LHC (« light harvesting complex ») associées, le cytochrome B6f et l'ATP synthétase. La lumière est absorbée par les LHC, des complexes protéiques associés à des pigments et enchâssés dans les membranes des thylakoïdes, et l'énergie lumineuse est transférée à la chlorophylle a des centres réactionnels des photosystèmes. Il se déroule alors une séparation de charge, la chlorophylle excitée donne un de ses électrons à un accepteur primaire (phéophytine a pour le PSII, chlorophylle a pour le PSI). L'ensemble du transport d'électrons linéaire peut être décrit comme une suite de transferts d'électrons partant de l'eau et aboutissant au NADP+ **(Rochaix, 2011).**

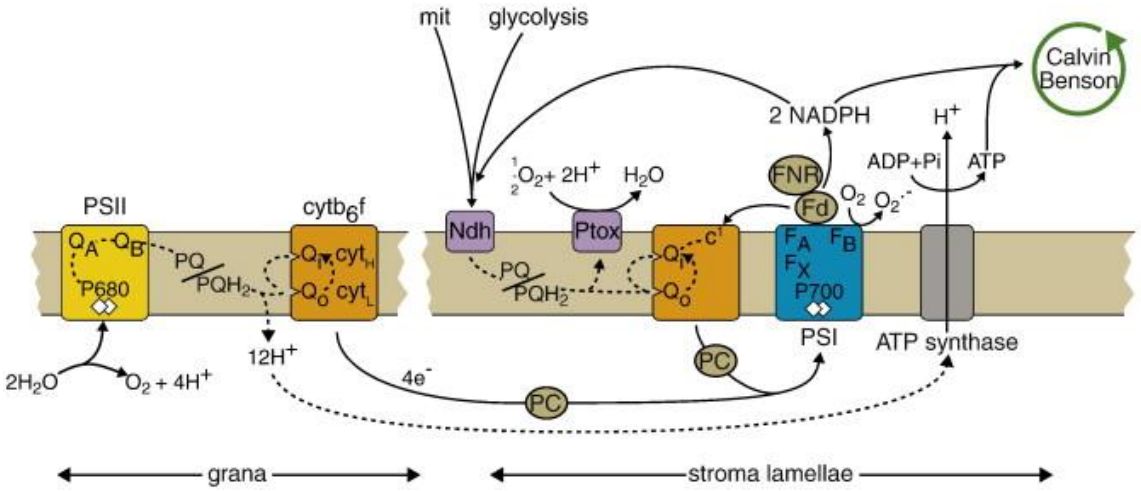


Figure 9. Illustration de la chaine de transport des électrons de la photosynthèse oxygénique. **(Rochaix, 2011).**

1.5.2. La régulation de la photosynthèse

L'appareil photosynthétique est capable de s'adapter rapidement en fonction des changements environnementaux. L'une de ces adaptations est le « non photochemical quenching » (NPQ). Après l'absorption d'un photon, la chlorophylle a du PSII est capable de dissiper l'énergie par l'émission d'un photon de fluorescence, par transfert d'exciton suivi d'une séparation de charges, ou par désactivation thermique. Pour une large population de chlorophylles du PSII, le rendement de fluorescence variera donc en fonction des rendements des autres voies de dissipation. Le transport linéaire des électrons, résultant des séparations de charges, va donc diminuer la fluorescence émise par la chlorophylle, c'est l'extinction ('quenching') photochimique (qP) **(Müller et *al.*, 2001).** L'extinction non-photochimique, NPQ, est le mécanisme par lequel l'excès d'énergie d'excitation ne pouvant pas être utilisée pour la photosynthèse est dissipée afin d'éviter l'apparition d'un stress oxydatif. Il est la somme de différents mécanismes contribuant tous à cette dissipation d'énergie, le quenching d'état de haute énergie (qE), le quenching de la fluorescence causée par les transitions d'état (qT) et la photoinhibition (qI) **(Goss and Lepetit, 2015)**. Le premier, qE, est dépendant de la diminution du pH dans le lumen des thylakoïdes. Cela induit la protonation de sous-unités du PSII et d'une violaxanthine dé-époxydase, qui devient active pour la dé-époxydation de la violaxanthine en zéaxanthine. D'une façon encore imparfaitement comprise, la formation de zéaxanthine est associée à un changement de conformation des LHCII qui permet une dissipation accrue de l'énergie d'excitation lumineuse sous forme thermique, détectable comme une baisse du rendement de fluorescence (quenching). La photoinhibition (qI) est

induite par une exposition à de fortes intensités lumineuse et traduit des dommages au centre réactionnel du PSII **(Müller et *al.*, 2001)**. Enfin, la transition d'état (qT) intervient lorsque le pool de plastoquinones est réduit, les plastoquinones vont se lier au site Qo du cytochrome B6f ce qui conduit à l'activation d'une kinase. Celle-ci va phosphoryler les LHCII et provoquer leur détachement du PSII et la migration d'une partie d'entre eux vers le PSI. Cela permet un rééquilibrage de l'énergie d'excitation **(Rochaix, 2011).** Des voies de transport alternatives des électrons ont été décrites chez les microalgues (Figure 10). Il en existe plusieurs. Par exemple, il peut y avoir une réduction d'O2 au niveau du PSI via la réaction de Mehler, par l'activité de protéines nommées 'flavodiiron proteins' (FLVs), ainsi que via la plastoquinone oxydase terminale (PTOX). Une consommation de l'excès de pouvoir réducteur peut aussi se produire au cours de la photorespiration, qui résulte d'une activité oxygénase de la Rubisco. Les transports cycliques des électrons autour du PSI peuvent aussi être considérées comme des voies alternatives **(Peltier et *al.*, 2010).**

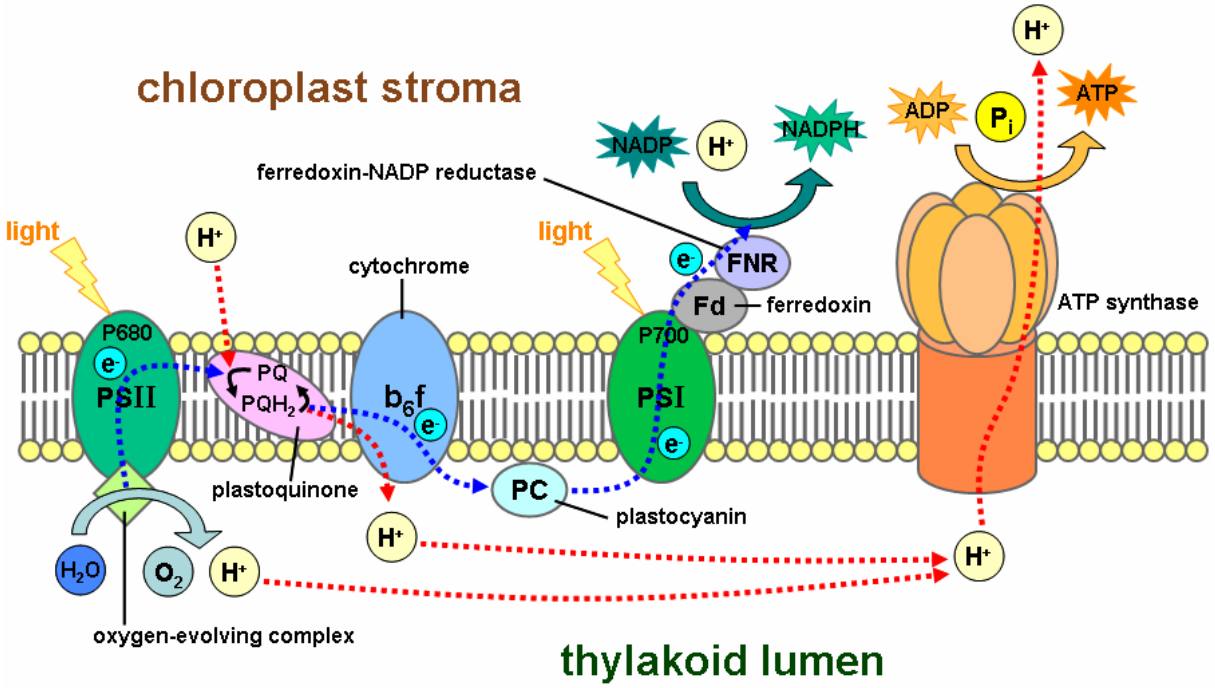


Figure10. Illustration des différents transports alternatifs d'électrons.

Au final, la vitesse du dégagement d'O2 nette dépendra de la consommation de l'oxygène par la respiration, de l'O2 utilisé dans les voies de transport alternatives lors de la saturation de la chaine de transport des électrons ainsi que la production d'O2 par la photolyse de l'eau au niveau du PSII. La vitesse du dégagement net d'O2 peut être mesurée à l'aide d'une électrode de Clark (cf. matériel et méthodes).

La photosynthèse se résume par l'équation suivante:

6 CO2 + 12 H20 + lumière - C6H1206 + 6 O2 + 6 H20. …….1

Dans cette équation globale, les 24 é sont retirés lors de la photolyse de l'eau pour réduire 6 CO2 en une molécule d'hexose: 6 C02 - C6H1206,

1.6. Les facteurs influençant les contenus cellulaires en chlorophylle

1. 6.1. Influence des conditions du milieu

La photosynthèse est influencée par les facteurs de l'environnement : la lumière (source d'énergie), le CO_2 (source de carbone) et la température (qui affecte l'ensemble des réactions biochimiques).

La photosynthèse est un processus complexe qui fait intervenir de nombreuses étapes qui sont affectées de manière différente par les facteurs de l'environnement. De ce fait, les facteurs externes agissent indépendamment les uns des autres et le phénomène global obéit à la loi dite des « facteurs limitants » que l'on peut énoncer de la façon suivante : lorsqu'un processus est contrôlé par plusieurs facteurs agissant indépendamment, son intensité est limitée par le facteur qui présente la valeur minimum. Le facteur est alors limitant et la vitesse du processus est proportionnelle à la valeur de ce facteur.

(https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-svt/la-photosynthese-generalites).

- **La lumière**

Les chlorophylles sont des pigments. De ce fait, ces molécules (comme les autres pigments photosynthétiques) peuvent être excitées par les radiations lumineuses. Cette excitation est due à la présence de liaisons conjuguées (et donc d'électrons délocalisés) : l'arrivée d'un photon fait passer un électron délocalisé d'un état fondamental (non excité) à un état excité. Chez la chlorophylle, il existe deux états excités : un état supérieur (Sa) et un état inférieur (Sb), selon l'énergie du photon excitateur.

La chlorophylle, une fois excitée, retourne à son état fondamental, plus stable thermodynamiquement. Ceci peut se faire de plusieurs manières, et en particulier en :

- émettant de la lumière (c'est la fluorescence constatée dans une solution de chlorophylle) ;

- transférant son énergie à une molécule très proche (c'est la résonance, qui permet aux pigments de l'antenne collectrice des photosystèmes de transférer l'énergie lumineuse de molécule en molécule jusqu'à une chlorophylle piège) ;

- perdant un électron (c'est la photochimie, qui permet à la molécule de chlorophylle piège du photosystème de réduire un accepteur d'électron, et ainsi de permettre la réalisation de la chaîne photosynthétique).

- **La concentration en CO_2**

Les plantes aériennes assimilent le CO_2 atmosphérique (0,035 % de CO_2) tandis que les plantes aquatiques absorbent soit le CO_2 dissous (concentration faible : environ 10 µM à pH 7), soit les ions bicarbonate HCO_3^- (concentrations élevées : de l'ordre du mM, mais variable en fonction du pH), qui sont ensuite convertis en CO_2 grâce à la réaction catalysée par l'anhydrasecarbonique.

La quantité de CO_2 disponible est limitante dans des conditions d'éclairement moyen. Par conséquent, une augmentation de la photosynthèse est observée lorsqu'on augmente la concentration de CO_2.

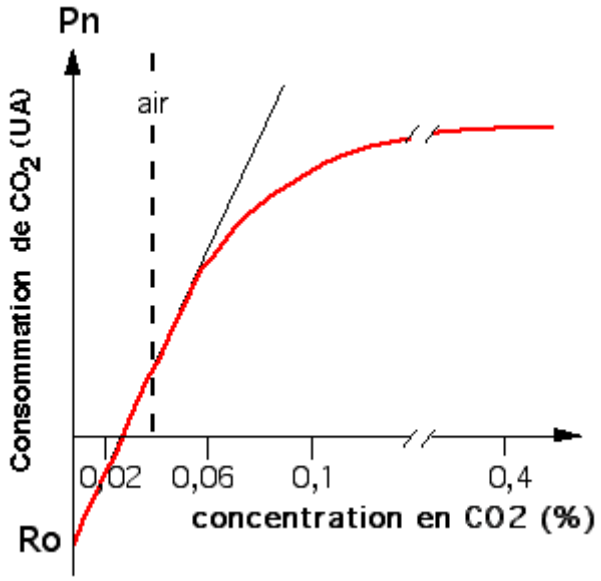


Figure 11. Évolution de la concentration en dioxygène à l'obscurité et à la lumière lors de la photosynthèse.

- **La température**

L'optimum de température des plantes varie en fonction de leur origine. Ainsi, les plantes des régions tempérées ont un maximum qui se situe entre 15 °C et 25 °C, avec une limite de tolérance au froid vers – 2 °C à 0 °C et de tolérance au chaud vers 40 °C à 50 °C. Pour une plante donnée, on observe des modifications du point de compensation (I_C) et du point de début de saturation (I_S), mais sans modification du rendement Φ. Ceci montre que les réactions photochimiques sont peu ou pas sensibles à la température, au contraire des réactions biochimiques.

- **Effet de la Production des glucides**

Toutefois, il est difficile de caractériser les glucides simples produits par la photosynthèse dans des expériences utilisant du matériel simple. Il est possible par contre de caractériser l'amidon (un polymère de glucose mis en réserve lorsque la photosynthèse est très active). Cette caractérisation se réalise avec le lugol, un réactif spécifique de l'amidon.

On peut ainsi observer la présence d'amidon au sein des chloroplastes de cellules des feuilles d'élodée mises à la lumière.



Figure 12. Observation d'une feuille d'élodée exposée à la lumière
Une feuille d'élodée est placée dans une eau enrichie en hydrogénocarbonate et éclairée plusieurs heurs
A gauche : cellules observées sans coloration, chloroplastes naturellement verts.
A droite : après traitement par le lugol, des grains d'amidon de couleur sombre sont visibles dans les chloroplastes.

- **Effet d’azote**

L'azote possède une fonction cruciale : il est présent dans la chlorophylle, dans les chromosomes et dans les enzymes. Il est présent dans d'innombrables composés, ce qui explique son rôle central dans la croissance et le développement. Toute carence prématurée en azote freine la croissance et réduit le rendement à travers de faibles indices foliaires et une durée de végétation réduite. Une carence en azote réduit non seulement le rendement final, mais aussi la teneur en protéines de la plante.

(https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-svt/la-photosynthese-generalites).

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

1. Matériel et méthodes

1.1. L'objectif d'étude

Ce travail est focalisé sur l'optimisation des conditions du milieu, tel que l'intensité lumineuse et de l'inoculum de dépôt sur la production de la biomasse et la production des pigments photosynthétiques tel que : la chlorophylle et la phycocyanine .Deuxièment est de vérifier les effets thérapeutiques (effet antioxydant, anti-inflammatoire et antibactérien) des extraits obtenus des biomasses produits durant l'optimisation.

1.2. La souche

Nous avons utilisé un micro algue (la spiruline), l'espèce *d'ArthrospiraPlatensis* (**figure 13**) d'origine de sud algérien.



Figure13. *Arthrospiraplatensis*sous microscope optique (originale 2021)

On a cultivé la souche aimablement dans des flacons de 720 ml, dans le laboratoire de faculté des sciences de l'Université de YAHIA Fares (Médéa) dans des conditions de culture bien précis.



Figure 14.Les cultures de la spiruline cultivées au laboratoire universitaire

1.3. La culture

On a cultivé la souche d'origine algérien dans un milieu de culturequi s'appel « ZARROUK », qui est enrichis par des éléments minéraux, leur composition est présentée par le tableau suivant :

Tableau IV . La composition chimique de milieu Zarrouk **(FOX 1999).**

COMPOSITION	CONCENTRATION (g /l)
$NaHCO_3$	16.80
K_2HPO_4	0.50
$NaNO_3$	2.50
K_2SO_4	1.00
NaCl	1.00
$MgSO_4$	0.20
$CaCl_2$	0.04
$FeSO_4$	0.01
EDTA	0.08
Solution A5	1
Solution B6	1

Tableau V . Composition chimique de la solution A5 **(FOX .1999).**

Oligo-éléments	Concentration (g /L)
H_3BO_3	2.86
MnCl2	1.81
$ZnSO_3$	0.22
$CuSO_4$	0.08
MoO_3	0 .01

TableauVI .composition chimique de la solution B6

Oligo-éléments	Concentration (g /L)
$K_2Cr(SO_4)^4$	$960x10^{-4}$
$NiSO_4$	$478x10^{-4}$
$Ti_2(SO_4)^3$	$400x10^{-4}$
NH_4VO^3	$229x10^{-4}$
Na_2WO^4	$179x10^{-4}$
$Co(NO_3)^2$	$44x10^{-4}$

1.3.1. Les conditions de culture

Pour développer la culture, il faut assurer les conditions du milieu tel que :

1. Une température qui maintenueà une valeur optimale de 30±2C° ;

2. Une lumière blanche assuré par des lampes fluorescentes ;

3. Une pompe à air est utilisée pour le barbotage ;

4. La culture est réalisée dans un photobioréacteur de forme annulaire avec une épaisseur de 2,5 cm.

1.3.2. La préparation de milieu de culture

On a réalisé la culturedans un milieu synthétique décrit par Zarrouk en 1996. Ce milieu contient tout les éléments nutritifs nécessaires pour le développement d'*Arthrospiraplatensis*à des concentrations appropries aux besoins de l'algue **(OULD BELLAHCEN *al*., 2013).**

Après le mélange de tous les composants chimiques (présentés dans les tableaux) On réalisé l'agitation à l'aide d'un agitateur à 30°C. On a testé et ajusté le milieu de culture à un ph = 9 par l'addition d'NaOH puis, On a le conservé à l'abri de la lumière.

1.3.3. Vérification de la culture d'*Arthrospiraplatensis*

- ✓ **Examen microscopique**

L'observation microscopique de la spiruline permet de vérifier l'état de culture, ainsi pour mettre en évidence la mobilité et faire une approche sur la morphologie.

On a réalisé cet examen en déposant sur une lame une goutte de culture, cette goutte est recouvrir ensuite par une lamelle. Après, on a l'examiné à grossissement 40.

1.4. L'extraction de la chlorophylle

- ✓ **Mode opératoire**

On a réalisé la centrifugation des échantillons de 5 ml de suspension de la spiruline pendant 5 min à 3500 tpm, on a conservé le culot uniquement (On a rejeté le surnageant). Après, on a ajouté 5 ml de méthanol au culot, et homogénéisé le tous dans un homogénéisateur.

On a déposé les échantillons dans un bain-marie à 70 °c pendant 2min. Ensuite, on les centrifugés à nouveau pendant 5 min à 3500 tpm, avec la récupération de surnageant pour la mesure de la densité optique à 665 nm. **(VONSHAK et al., 2007).**

- ✓ La détermination de concentration de la chlorophylle par l'équation suivante :

$$C = DO665 * 13.9 \quad \text{.....2}$$

- ✓ La teneure en chlorophylle est déduit par l'équation ci-dessous :

$$T\left(\frac{mg}{g}.ps\right) = c.\frac{1000}{xf} \quad \text{.....3}$$

T : teneur en chlorophylle.

C : concentration de chlorophylle mg /ml.

Xf : concentration de spiruline.

1.5. L'extraction de la phycocyanine

On a réalisé la détermination de la teneur de phycocyanine dans une culture *d'Arthrospiraplatensis*selon les étapes suivantes

- On a centrifugé 200ml de culture à 6000 rpm pendant 10minutes ;
- On a ajouté ensuite 10ml d'une solution de tampon phosphate à PH = 7 ;
- On a congelé le mélange à -20 ° C et décongelé à 4° C de manière répétitive pendant 4 heures (30 min de congélation et 30 min de décongélation pendant 4 heures) ;
- On a centrifugé ensuite les extraits obtenus à 6000 rmp pendant 10minutes (avec la récupération de surnageant seulement) ;
- Comme dernière étape on a mesuré la densité optique de surnageant à une longueur d'onde de 615nm puis à 652 nm.

Le calcul de la concentration totale de phycocyanine(PC) est réalisé selon l'équation suivante :

$$\mathbf{PC} = \boldsymbol{DO615} - \mathbf{0.0474}.\frac{\boldsymbol{DO652}}{\mathbf{5.34}} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots 4$$

(LAMELA et MARQUEZ . ,2000).

1.6. L'effet antibactérien

- ✓ L'effet antibactérien est réalisé sur les extraits à différentes dilutions (1/2 ,1/4 et 1/8)
- ✓ Les dilutions utilisées sont motionné sur le tableau suivant :

Tableau VII . Les dilutions des extraits de la spiruline.

Dilution	Concentration (µl)
Pure	50
1/2	100
1/4	150
1/8	350

1.6.1. La méthode de diffusion en gélose

« Mueller Hinton »a été Le milieu utilisé pour la détection de la sensibilité des bactéries au poly phénols

- ✓ **Mode opératoire**

- On a préparé d'abord une suspension de la souche cible, puis on a ensemencé cette dernière par étalement sur gélose Mueller Hinton déposé sur boite pétrie ;
- On a ensuite imprégnés des disques de papier buvard par les différentes dilutions de l'extrait ;
- Puis, on a déposé stérilement les disques sur gélose a l'aide d'un pince ;
- Ensuite on a incubé les boites pétries à 37°c pendant 18 heures.

1.7. L'effet antioxydant

L'effet antioxydant est évolué par l'utilisation d'un radical appelé DPPH .On estime l'effet antioxydant par le virage de couleur en chlorométrie.

1.7.1. Préparation de la solution DPPH

On a préparé la solution de DPPH selon les étapes suivantes :

- On a mélangé 4g de DPPH en poudre avec100ml de solution d'éthanol ;
- On a bien agité le mélange à l'aide d'un agitateur ;
- On a recouvrir la solution par le papier aluminium pour éviter sa dégradation.
- ✓ Pour prouver le pouvoir antioxydant de notre extrait tout d'abord, on a mélangé 3.9ml de la solution DPPH avec 0.1 ml de notre extrait. L'effet antioxydant se traduit par un virage de couleur jaune de la solution. Cette étape préliminaire pour suivre l'étude d'effet antioxydant sur les différentes dilutions.

1.7.2. La préparation des dilutions et mesure des titres

- **La solution mère :** 10ml d'éthanol a été mélangée avec 1g de notre extrait.
- **Les dilutions :**

Le volume a été calculé par la loi**C1.V1=C2.V2 ……5**

- V1= 50.10 /100= 5ml ;
- V2=25.10/100 =2.5ml ;

- V3=10.10/100=1ml ;
- V4=5.10/100=0.5ml ;
- V5=2 .5.10/100=0.25ml.

Tableau VIII . Préparation des dilutions .

Dilution	D1	D2	D3	D4	D5
DPPH (ml)	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
Echantillon(ml)	5	2,5	1	0,5	0,25
à complété jusqu'à 10 ml					

- Après la préparation des dilutions, on a préparé une série des tubes, dans chaque tube on a mélangé 3.9 ml de DPPH avec 0.1 ml .de chaque dilution déjà préparé.

1.7.3. Mesure de l'absorbance

A l'aide d'un spectrophotomètre, on a mesuré l'absorbance à une longueur d'onde égale à 517nm.

1.8.Étude du potentiel anti-inflammatoire du phycocyanine

- ✓ L'effet anti-inflammatoire est déterminé par la mesure de l'épaisseur des pates des rats on utilisant un pied à coulisse. L'effet anti-inflammatoire est porté sur trois lots présentés ci-dessous :
- On a préparétrois lots de 2 souris de même sexe mis à jeun 12 heurs avant l'essai ;
- **Lot 1**, (témoin négatif de l'effet phlogogène de la carraghénine), on a injecté les plantes des pieds des rats de ce lot par 0,4 ml de l'eau physiologique (Na Cl à0, 9%)
- **Lot 2**, (expérimental), Les rats de cet lot reçoit par voie orale 1ml de l'extrais de spiruline (phycocyanine) puis ils ont injectés sur la plante des pied par la carraghénine .
- **Lot 3, (**utilisé pour la mise en évidence de l'effet phlogogène de la carraghénine), Les rats dans ce cas la sont injectés par 0,4 ml de la carraghénine.

Résultats et discussion

1. Résultats & discussion

1.1Vérification de la culture d'***Arthrospiraplatensis***

Pour dire que la culture est dans un bon état et ne contienne pas des contaminations, il faut vérifier sa couleur et odeur. Notre cultureprésente une bonne couleur verte avec une odeur algal agréable.

1.1.2. Examen à l'état frais

L'observation microscopique de spiruline à l'état frais par grossissement40 montre que *l'Arthrospiraplatensis* présente une forme d'un filament droit avec une couleur vert vif. Ce qui confirme que l'échantillon de spiruline été en bon état de culture selon **(MUHLING ., 2000).**L'absence des cellules nécrides indique que la culture est à l'état de croissance exponentielle.



Figure 15.observation microscopique de spiruline à l'état frais à grossissement 40.

1.1.3. Vérification de la croissance de Culture

D'après la figure 16 on note que la culture de spiruline sur milieu Zarrouk est en bonne croissance. (La biomasse flotte à la surface de milieu avec l'absence des résidus en suspension) .

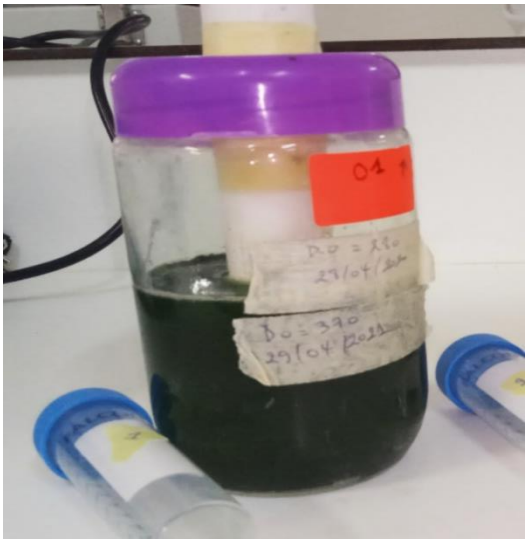


Figure 16.la culture de spiruline sur le milieu Zarrouk.

1.2. L'évolution de biomasse de spiruline

La valeur de la concentration en biomasse a été déterminée par la conversion de la valeur de l'absorbance en concentration par la relation suivante : **DO= 0.0355x – 0.01(à 630 nm) …6** ou X est la concentration de spiruline.

L'évaluation de la biomasse a été mesurée en fonction du temps (en jours). La figure 17montre la cinétique de croissance des quatre cultures suivies pour une durée de 24 jours de croissance.

Tableau IX. Evaluation de biomasse de la spiruline pendant 26 jours

Les jours	DO1	Biomasse1 g/l	DO2	Biomasse2 g/l	DO3	Biomasse3 g/l	DO4	Biomasse4 g/l
28/04	0.280	0.320	0.260	0.303	0.250	0.294	0.210	0.258
29/04	0.370	0.400	0.369	0.399	0.260	0.303	0.230	0.279
03/05	0.399	0.426	0.380	0.409	0.290	0.329	0.330	0.365
04/05	0.568	0.575	0.495	0.511	0.347	0.380	0.400	0.427
05/05	0.665	0.661	0.657	0.654	0.453	0.474	0.509	0.523
06/05	0.884	0.856	0.716	0.707	0.612	0.614	0.679	0.674
09/05	1.190	1.127	0.810	0.790	0.630	0.630	0.260	0.303
16/05	1.750	1.623	1.183	1.120	1.094	1.042	0.309	0.346
18/05	1.795	1.663	1.397	1.310	1.275	1.202	0.796	0.778
19/05	1.812	1.678	1.740	1.614	1.310	1.233	0.991	0.950
20/05	1.978	1.825	1.805	1.672	1.504	1.405	0.973	0.934
23/05	1.991	2	1.855	1.716	1.650	1.534	0.820	0.799

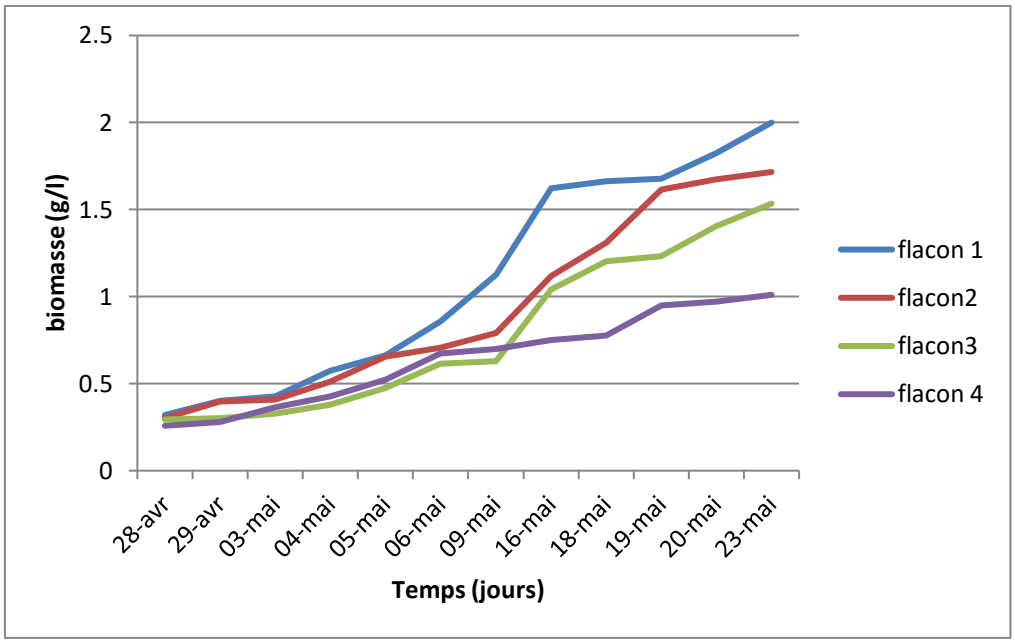


Figure 17.L'évaluation de biomasse de la spiruline pendant 26 jours.

D'après la figure 17, la biomasse de spiruline augmente au cours du temps (26 jours)

On a noté que la biomasse de spiruline sous une lumière de 4000 Lux est élevée par rapport les autres intensités ce que signifie que la lumière est un facteur important dans l'évolution de la biomasse de la spiruline. A faible intensité lumineuse (1000 Lux), on a noté une réduction de biomasse à 45% par rapport à celle de 4000 Lux. On peut expliquerce comportement par l'effet d'ombre : développement faible a faible lumière (1000 Lux) et une mauvaise distribution de la lumière dans le photobioréacteur**(Richemen, 2004).**

1.3. La détermination de la teneure en phycocyanine

La figure 18 présente les résultats d'extraction de phycocyanine des quatre flacons déposés à différentes intensités lumineuses.

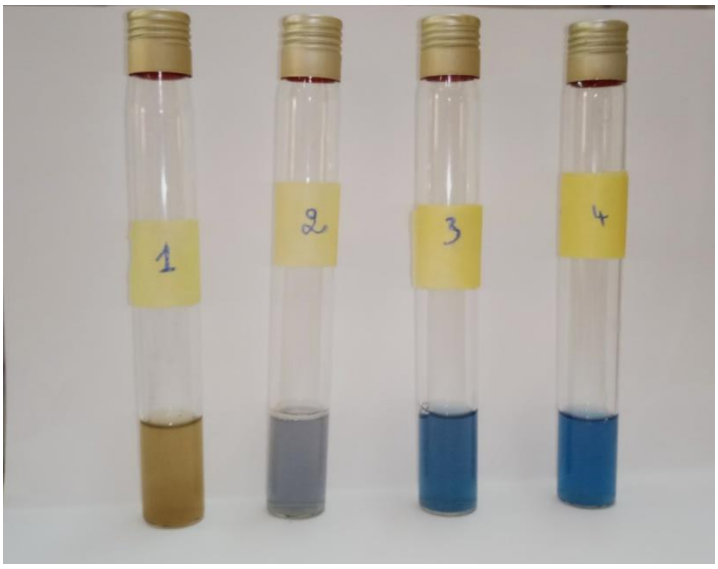


Figure18. La teneur en phycocyanine des quatre flacons.

- ✓ La spiruline présente une couleur bleue verte sombre parce qu'elle est riche en un polypeptide bleu vif appelé phycocyanine.On constate que le flacon 4 est le plus productive en phycocyanine de reste des flacons.
- ✓ L'intensité de la couleur est proportionnelle avec la quantité de phycocyanine obtenus.
- ✓ La concentration de la phycocyanine augmente avec l'intensité lumineuse.
- ✓ La quantité de phycocyanineextrait est plus grande pour 4000 Lux.
- ✓ La concentration de phycocyanine dans les cellules dépend des conditions de croissance **(LAMELA et MARQUEZ., 2000).**

1.3.1. Intensité de la lumière

On a cultivé la spiruline dans des intensités différentes de lumière, pour savoir quelle est la meilleure intensité qui permettre d'obtenir une teneure significative de phycocyanine.

On a divisé l'*Arthrospiraplatensis*en quatre flacons, le tableau ci-dessous montre les concentrations de la pychocyanine en fonction de l'intensité lumineuse :

Tableau X . La concentration de phycocyanine en fonction de l'intensité lumineuse.

Flacon	Lumière (lux)	DO(615)	DO(652)	Concentration (g/l)
1	4000	0 ,770	0,942	0,127
2	3000	0 ,539	0,452	0,041
3	2000	0,239	0,737	0,032
4	1000	0,229	0,782	0,033

La concentration est mesuré par l'équation : $\mathbf{PC= DO615 - 0.0474.\frac{DO652}{5.34}}$**……..7(LAMEL et MARQUEZ, 2000).**

L'évolution de la concentration en fonction de l'intensité lumineuse montre une monte progressive avec la lumière cela signifie que la culture n'a pas arrivé à la saturation en lumière **(Avoughak, 1997).**

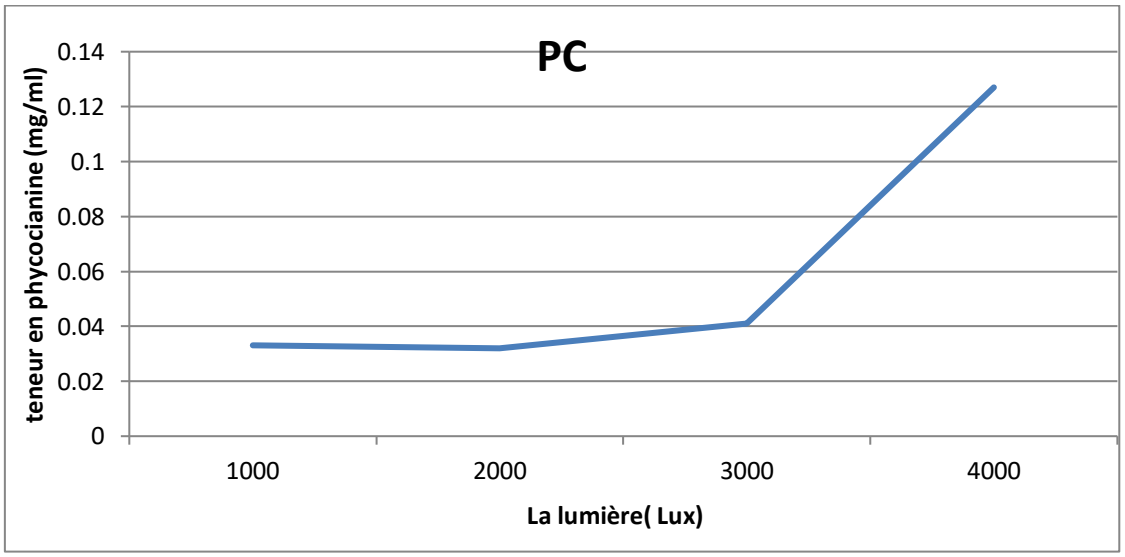


Figure 19. Courbe représente la teneur en phycocyanine en fonction de l'intensité lumineuse.

1.3.2 L'effet de concentration de biomasse sur l'accumulation de phycocyanine

On a déposé les cultures de spiruline dans une même zone de lumière (2000lux),(Lumière fixée).

On a travaillés avec différentes concentrations de la spiruline 1g /l, 1.5g/l , 1.8g/l et 2g /l .Les résultats sont résumés dans la **(Figure 20) :**

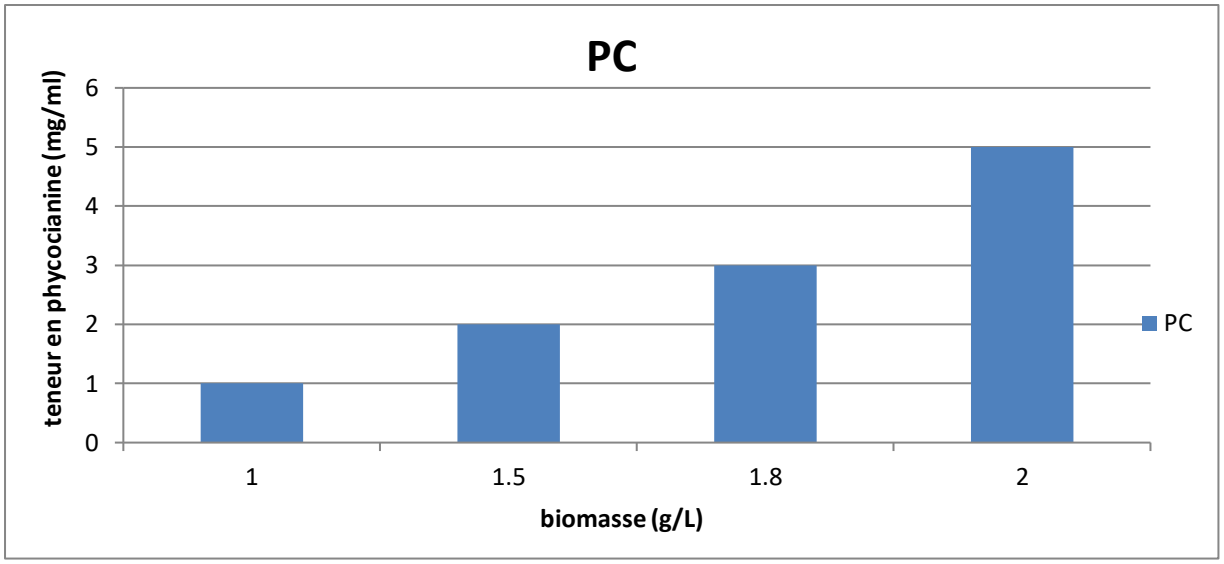


Figure 20.teneur en phycocyanine en fonction de biomasse.

- ✓ La teneur en phycocyanine et proportionnel avec la concentration de biomasse, ces résultats sont accord **(Lonneborg et *al.*, 1985)** .
- ✓ L'augmentation de pigment photosynthétique (phycocyanine) avec la densité est une stratégie qui est utilisée par les organismes photosynthétiques à faible éclairage **(Ogbonna, 1998)**, cela permet d'augmenté la capacité photosynthétique et un capte maximum en lumière.

1.4. La détermination de la teneur en chlorophylle

Les résultatsd'extraction de chlorophylle des quatre flacons sont présentés dans la **(figure21).**

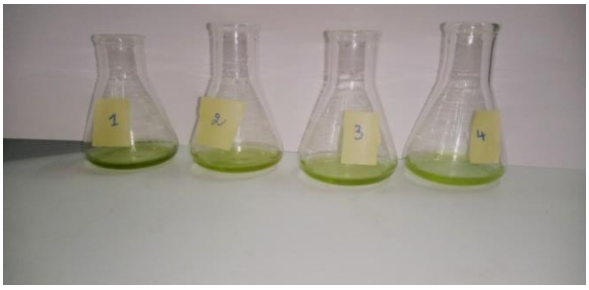


Figure 21.extraction de chlorophylle de la spiruline

Le tube N°1 a été déposé dans une intensité luméneuse élvée (4000lux).

D'après la figure 21 on remarque que la couleur verte dans le tube N° 1 est foncé par raport les autres tubes ce qui signifie que la concentration de la chlorophylle dans ce dernier est élvée.

Selon **(Madhyastha and Vatsala ,2007)**les intensités lumineuses élevées va augmenter la production de chlorophylle et ça correspond aux notre résultats**.**

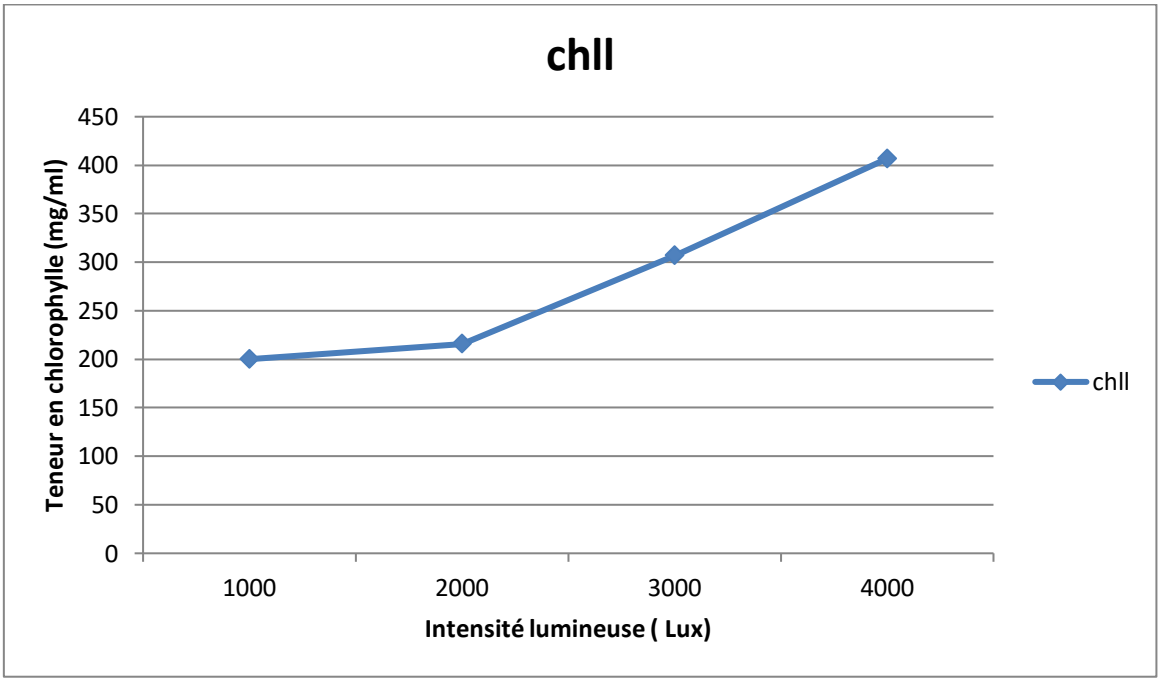


Figure22.la teneur en chlorophylle en fonction de l'intensité lumineuse

La teneur en chlorophylle augmente avec l'augmentation de l'intensité de la lumière.La culture n'a pas arrivée à la saturation pour avoir le plateau en chlorophylle**(Vanshak.A,1997)**.

1.5. L'activité biologique de spiruline

Dans cette partie on a étudié trois activités biologiques :

- ✓ L'activité antibactérienne ;
- ✓ L'activité antioxydant ;
- ✓ L'activité anti-inflammatoire.

1.5.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

On a évalué l'activité antibactérienne d'un extrait de spiruline sur trois germes pathogènes (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa* qui sont des souches sauvages).

On a déterminé la sensibilité des bactéries par la méthode de diffusion en gélose, et on a obtenue le pouvoir antibactérien par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition en (mm) à l'aide d'une règle.

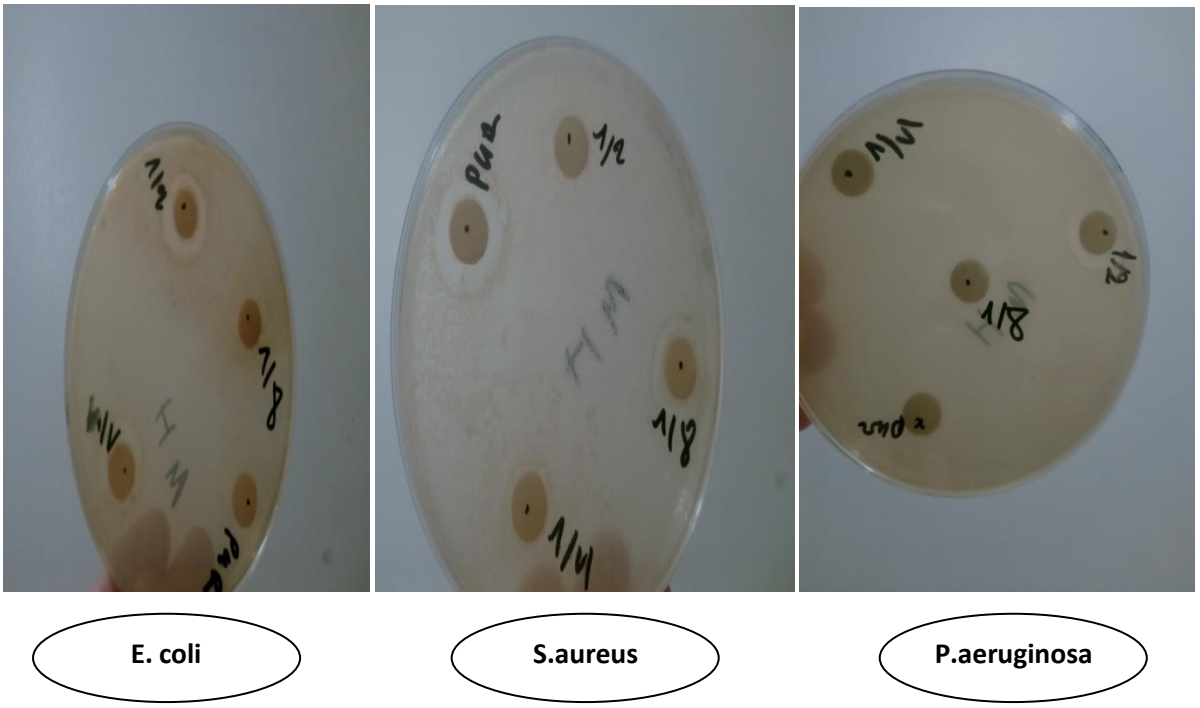


Figure 23.L'activité antibactérienne des extraits de spiruline vis-à-vis de *E.coli, S.aureus* et *P. aeruginosa*.

- ✓ Des zones d'inhibition à diamètres acceptables ont été observées dans le cas des dilutions [1/2] , [1/4]et [1/8] pour ces souche .Des différents diamètres de zone d'inhibition ont été apparu selon la dilution d' extrait pour touts les types des souches
- ✓ Concernant la sensibilité, le degré de sensibilité aussi diffère d'une souche à une autre, *S. aureus* est plus sensible que *E. coli* et *P. aeruginosa* , et *E. coli*sont plus sensible que *P. aeruginosa* .
- ✓ Les diamètres qui ont été obtenus sont différents telle que :*S. aureus* a des diamètres significatifs presque avec touts les dilutions.(17mm avec la dilution[1/4] et 13mm avec la dilution [1/8]).

- ✓ Pour *E. coli* on a observé l'absence de la zone d'inhibition avec la dilution [1/8].
- ✓ Concernant la souche *P .aeruginosa*, la zone d'inhibition est apparu uniquement avec la dilution [1/2] .(13mm).

- D'après **(D'ABDO et *al* .,2012)** et **(KAUSHIK et CHAUHAN .,2008)** la cyanobactérie *A . platensis* présente l'activité antibactérienne la plus efficace contre les bactéries à Gram positif et Gram négatif.
- Les résultats obtenus montrent que l'extrait d'*A. platensis*est actif contre S. aureus, E .coli et P. aeruginosa, et qui sont en accord avec les résultats d'**(RANIA, TAHA , . ,2008 , SUDHA et *al* 2011 , PRADHAN et *al* . , 2012)** mais P. aeruginosa était la moine sensible d'après (**EL-SHEEKH et *al* . ,2013) .**(les résultats obtenus sont illustrées dans le tableau.)
- Selon **(TRABELSI et *al.*, 2010)** on trouve que l'activité antibactérienne est observée dans le cas des bactéries Gram positives alors qu'elle est absentechez les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* .
- Les bactéries Gram positives sont plus sensibles que les bactéries Gram négatives. ceci peut être attribué au fait que la paroi cellulaire chez les bactéries Gram positif est constituée d'une seule couche, tandis que la paroi cellulaire bactérienne Gram négative a une structure multicouche limitée par une membrane cellulaire externe **(ERGENE et *al.*, 2006)** .(dans notre cas les diamètres de gram+ (s.aureus sont 17mm,13mm avec les dilutions :[1/8]et [1/4] par ordre , et les diamètres des gram- sont : (E.coli : 12.5mm avec la dilution[1/4] et nul avec la dilution[1/8] , pour P.aeruginosa : les diamètres sont nuls avec les deux dilutions [1/4]et [1/8]).
- Selon **(ABEDIN et TAHA ., 2008)** les différences dans l'activité des extraits contre les bactéries peuvent être dues à des différences dans les propriétés physiologiques ou biochimiques des souches algales ou à différents biotopes ou condition de culture (la lumière , la température, le milieu…etc)
- D'après **(RATHI BHUVANESWARI et *al.*, 2013)** la procédured'extraction peut également entraine des différences d'activité antimicrobienne en raison des différences dans la nature du solvant , du temps d'extraction et la solubilité stabilité du composé antibactérien dans un solvant particulier .
- Par la comparaison à la gentamicine, l'activité antibactérienne de phycocyaninne*d'Arthrospiraplatensis* est révélée modérée.

Tableau XI . Variation des diamètres des zones d'inhibition.

Bactéries testées	Diamètres (mm) de la zone d'inhibition				
	Les dilutions de l'extrait de spiruline				
	Pure	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**ATB**
Staphylococcus aureus	18±0	-	17±0.05	13±0.05	18.33±2.86
Escherichia coli	10±1.2	16±1.3	12.5±0.16	-	26.66±1.69
Pseudomonas aeruginosa	-	13±0	-	-	24.66±0.47

1.5.2. L'activité antioxydant

On a évalué l'activité antioxydant des extraits des spirulines vis-à-vis du radical DPPH a par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical par le passage de la couleur voilette à la couleur jaune à 517 nm.Les résultats obtenus sont illustrés dans la **figure 24**

Le DPPH est un radical libre organique, toujours utilisé comme un réactif pour évaluer l'activité anti radicalaire des antioxydants **(Molyneux .,2004)**

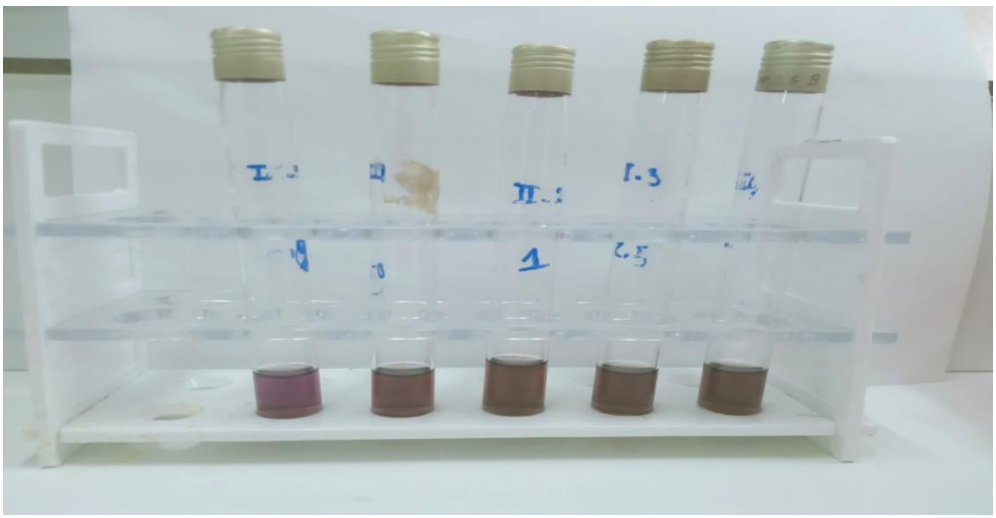


Figure 24.la mise en évidence de potentiel antioxydant.

- Après la préparation des dilutions, on a mesuré l'absorbance par l'UV visible et le pourcentage d'inhibitionestcalculé par laformule : $\boxed{\%\ \mathbf{d'inhibition} = \frac{\mathbf{Absorbace\ de\ controle - absorbance\ d'extrait}}{\mathbf{Absorbance\ de\ controle}} \times \mathbf{100}\ldots\ldots\ldots\ldots\mathbf{8}}$

- ✓ **Abs Contrôle :** l'absorbance du tube contrôle.
- ✓ **Abs Extrait :** l'absorbance de la concentration en test.

A partir des valeurs des absorbances obtenus nous avons calculés les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant.

Les résultats obtenus montrent une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibitiondu radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait et du contrôle positif . Ce qui a permis l'obtention de la courbe suivante :

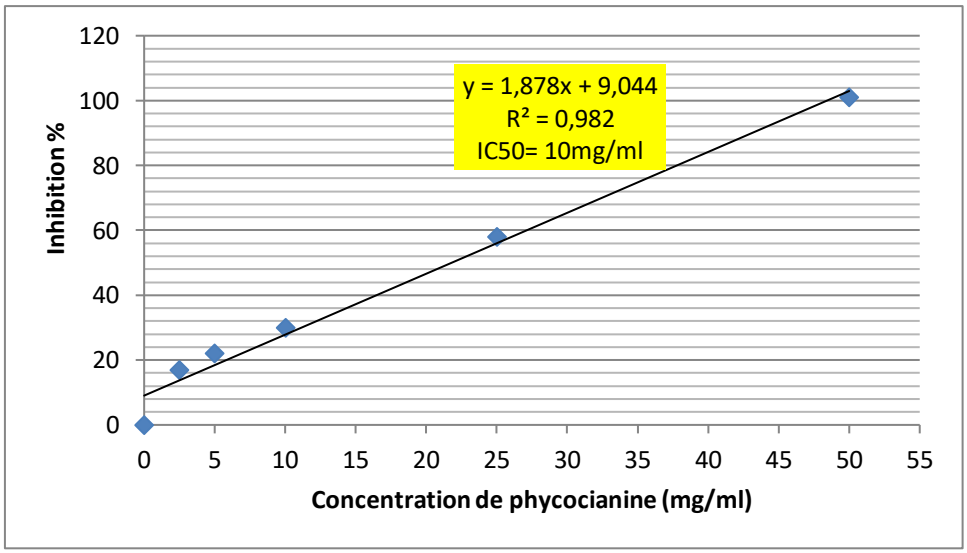


Figure 25. Le pouvoir antioxydant de la phycocyanine.

- La valeur IC50 est la concentration qui assure la réduction de 50% du DPPH, déterminée graphiquement a partir de la courbe du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait.

On a pris la vitamine C (L'acide ascorbique) comme un échantillon de référence grâce a son fort pouvoir antioxydant pour faire la comparaison avec notre extrait (phycocyanine). L'absorbance est mesurée après la préparation de différentes concentrations. Les résultats obtenus sont résumés dans la courbe suivante :

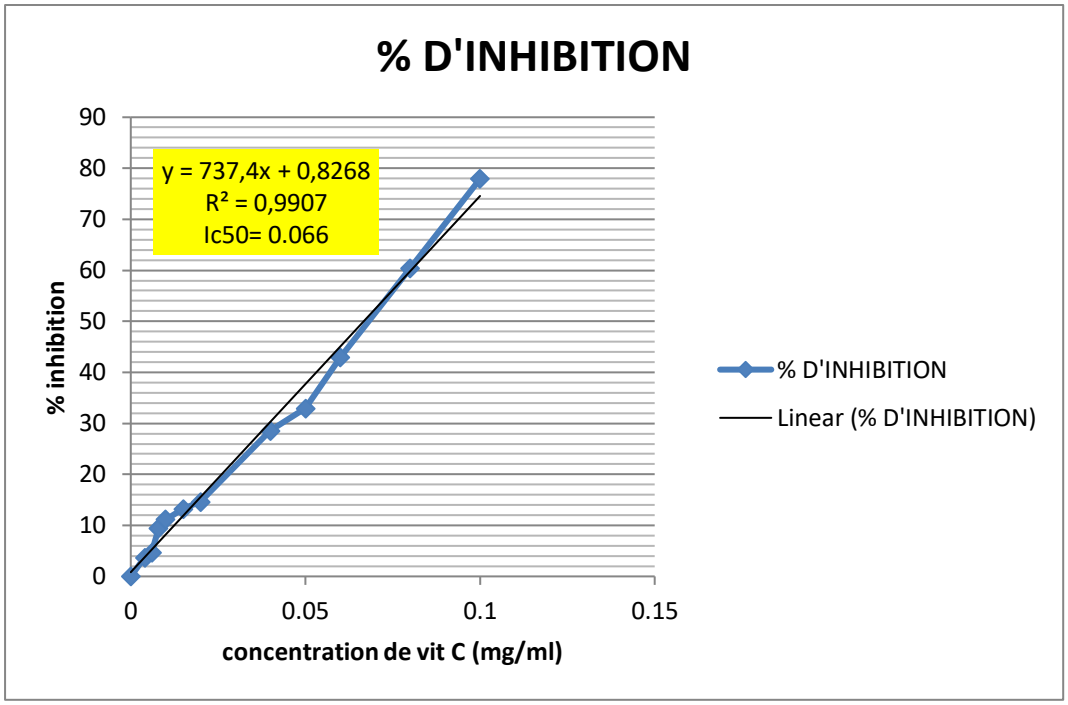


Figure26. Le pouvoir antioxydant de la vitamine C.

La valeur IC50 de la vitamine C est calculée par l'équation suivante :

Y=737,4x+0,8268……9

x=50-0,8268-737,4

x=0,066

D'après ces résultatsla valeur d'IC50 de la phycocyanine est de 10(mg/ml) et celle de vitamine C est de 0,066(mg/ml) on constat que la phycocyanine a un pouvoir antioxydant acceptable mais faible par rapport à la vitamine C.

1.5.3. Effet anti inflammatoire de phycocyanine

- L'épaisseur des pattes est un paramètre d'estimation d'effet antioxydant, les résultats obtenus des souris testés sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau XII . Lot1 Témoin négatif de l'effet phlogogène de la carraghénine .

N ° de souris	1	2	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0 .181	0.143	0.162
Après injection du carraghénine t_1	0.193	0.195	0.194
Après 30 min à t_2	0.184	0.167	0.175
Après 60 min à t_3	0.202	0.206	0.204
Après90 min à t_4	0.233	0.233	0.233
Après 120 min à t_5	0.228	0.226	0.227
Après 150 min à t_6	0.194	0.198	0.196
Après 180 min à t_7	0.206	0.238	0.222

Tableau XIII . Lot2 mis en évidence de l'effet anti inflammatoire de phycocyanine.

N ° de souris	3	4	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.194	0.193	0.193
Après injection du carraghénine t_1	0.239	0.262	0.250
Après 30 min à t_2	0.208	0.242	0.225
Après 60 min à t_3	0.272	0.259	0.265
Après90 min à t_4	0.258	0.308	0.283
Après 120 min à t_5	0.242	0.268	0.255
Après 150 min à t_6	0.245	0.246	0.245
Après 180 min à t_7	0.258	0.262	0.260

Tableau XIV . Lot 3 mis en évidence de l'effet phlogogène de la carraghénine.

N ° de souris	5	6	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.212	0.190	0.201
Après injection du carraghénine t_1	0.221	0.243	0.232
Après 30 min à t_2	0.281	0.224	0.2525
Après 60 min à t_3	0.248	0.280	0.264
Après90 min à t_4	0.312	0.333	0.3225
Après 120 min à t_5	0.337	0.289	0.313
Après 150 min à t_6	0.267	0.255	0.261
Après 180 min à t_7	0.231	0.256	0.2435

- Les résultats illustrés dans les **tableauxXII,XIII, XIV**sont résumés dans la figure suivante :

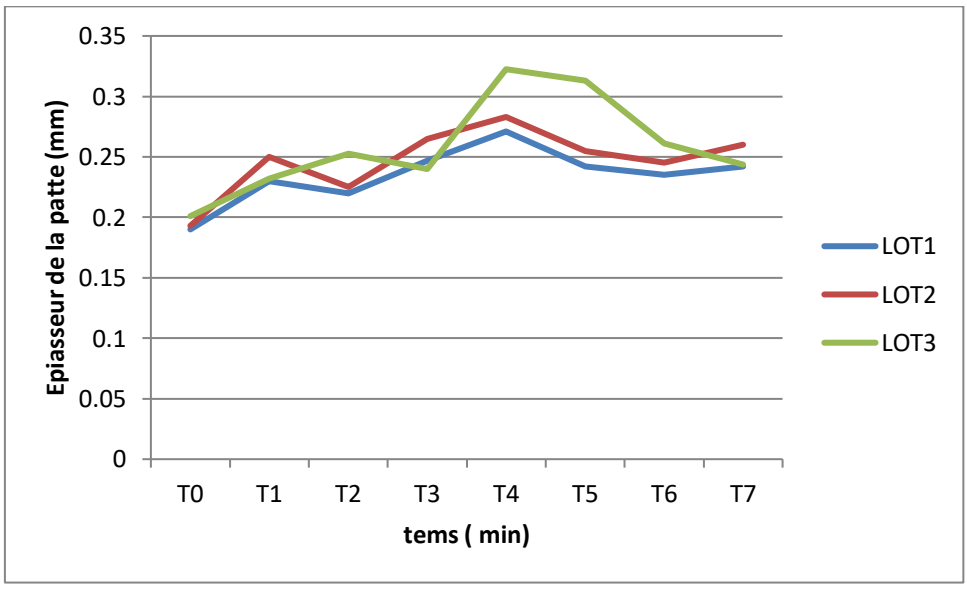


Figure 27.L'évolution des épaisseurs des pattes des rats dans les 3 lots.

- **Lot 1, et 3** : la légère régression est naturelle, toute inflammation est appelée à disparaître par une réaction de défense de l'organisme, mais la disparition de l'inflammation chez les rats de **lot 3** a été plus lente que chez celles de**lot 1**,se qui indique que l'effet pathogène de la carraghénine a été prouvé, et par conséquent l'eau physiologique (solvant de dilution) n'a pas provoqué une l'inflammation.

- **Lot 2**:dans lequel on a appliqué un gavage par notre extrait de phycocyanine , on a remarqué une diminution d'épaisseur des pattes de ces rats.On constate à travers la cette diminutionque l'inflammation a régressée sensiblement par apport au témoin.Ces résultats confirment que notre extrait (phycocyanine) possède une activité anti-inflammatoire.



Figure 28. Les trois lots des rats.



Figure 29. Gavage des rats de lot 2.

Conclusion

Conclusion

La spiruline est imposée comme un super micro algue en raison de ses nombreuses propriétés uniques, non seulement de sa haute valeur nutritionnelle ou de ses propriétés thérapeutiques exceptionnelles, mais même leur teneure en pigments photosynthétiques qui sont très intéressants, l'optimisation des conditions de croissance (lumière et biomasse) est nécessaire pour avoir une concentration significative de ces dernies. C'est ce qui a été démontré dans ce travail.

La lumière de la lampe blanche donne des concertations déférentes de chlorophylle et phycocyanine , la chlorophylle dans l' intensité lumineuse de 4000 lux a une concentration significative par conter ,sa concentration est faible dans les faibles intensités (1000 lux) .

Après avoir une bonne concentration de phycocyanine , l'effet antibactérien , antioxydant, et anti-inflammatoire ont été testés , les résultats obtenus sont significatifs.

L'apparition des zones d'inhibition et les mesures des diamètres de ces derniers l'effet antibactérien a été prouvé pour l'extrait pure avec une zone d'inhibition importante de 18mm pour les *staphylococcus aureus* , et un diamètre modéré de 13 mm pour *Pseudomonas aeruginosa.*

Concernant l'effet antioxydant, il a été évalué par le passage de la couleur violet de DPPH vers la couleur jaune.

A la fin, et a l'aide des rats nous avons pu prouver l'effet anti-inflammatoire par la mesure des épaisseurs de ses pattes inflammés.

Nous avant essayons de fournir toutes les conditions optimales pour avoir une grande quantité de ces extraits car elles ne nécessitent pas beaucoup d'efforts.

En perspective, on envisage d'améliorer la production des pigment en jouant sur différent paramètre du milieu, tel que ;

- l'épaisseur de photobioréacteur , à différente dimension , 5, 10, et 15
- la composition du milieu en source d'azote et en carbone
- l'intensité lumineuse proche de la lumière de soleil (15000, 20000, et 35000 lux)

Nous invitons également la communauté scientifique de notre pays à les accorder plus d'attention en raison de la possibilité de son utilisation dans de nombreux domaines surtout le domaine thérapeutique.

Références Bibliographique

Références bibliographiques

ABEDIN.R., H.M.TAHA. (2008) . Antibacterial and antifugal activity of cyanobacteria and green microalgae . Evaluation of medium components by placket-burman desingn for antimicrobial activity of spirulina platensis . Global J . biotechnol . Biochem . , 3(1) : 22-31 .

Ahounou, M. N. (2018) La SPIRULINE : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. (Doctoral dissertation, Université de Rouen).(TAXONOMIE 7

Al GhanayemA. 2017 :Antimicrobial Activity of Spirulina platensis Extracts Against Certain Pathogenic Bacteria and Fungi ; Original Article, Advances in Bioresearch, Journal's URL : http : // www.soeagra.com / abr.html, Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, Shaqra University, Shaqra, Kingdom of Saudi Arabia.

All M.G., Dankoko B., Badiane M., EhuaE., Kuwakuwi N., 1999:La Spiruline, Une Source Alimentaire à Promouvoir, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Dakar, Sénégal, Article 46 (3).

ANDREANI C. G., 2012 : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.

Audrey Manet. La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine. Sciences pharmaceutiques. 2016. ffdumas-01346709f

Aychunie, S. (1996). Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of Spirulina platensis (Arthrospira platensis). International Association of Applied Algology, 7th International Conference.

Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC (1980) Biologia fondamentale del genere Spirulina. In: Materassi R (ed) Prospettive della Coltura Massiva di Spirulina in Italia. CNR Rome, pp 49–85(CYCLE DE VIE)

Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC (1980) Biologia fondamentale del genere Spirulina. In: Materassi R (ed) Prospettive della Coltura Massiva di Spirulina in Italia. CNR Rome, pp 49–85

Banakar, V., Alam, Q., Rajendra, S. V., Pandit, A., Cladious, A., & Gnanaprakash, K. (2020). Spirulina, The Boon of Nature. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 11(1), 57-62.)

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.

Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. Form-genus I, 2001 :ArthrospiraStizenberger 1852. D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds.Bergey'sManual of SystematicBacteriology. NewYork, USA: Springer; 1. p. 542-543.

Charpy L, (2008). Colloque International « la Spiruline et le développement», formation et transfet de thechnologie, en matière de culture de Spiruline: 28 - 29 et 30 avril 2008.Toliara - SUD-OUEST MADAGASCAR: 8, 9, 89, 91, 131-134.(CYCLE DE VIE PHOTO)

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

Ciferri, O. (1983). Spirulina, the Edible Microorganism. Microbial. Rev. Vol. 47:551- 578.

Ciferri.O, (1983): Spirulina, the edible microorganism. Microbiol. Rev. 47(4), 551Ŕ578.
Clément.G, 1975. Production et constituants caractéristiques des algues Spirulina platensis et maxima. Ann Nutr Alim. 29 : 477-488

Clément, G., Giddey, C. et Menzi, R. (1967). Amino Acid Composition and Nutritive Value of the Alga Spirulina maxima. J. Sci. Fd. Agric. Vol. 18: 497-501.

Cruchot H , (2008) La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. université de France-Comite.

Doumenge F, Durand-Chastel H, Toulemont A. Spiruline, algue de vie/ Spirulina, algae of life. Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco ; numéro spécial 12. Monaco : Musée Océanograhique ; 1993.

El khilifi, M. (2020). Contribution a l'étude de la composition chimique de la spiruline : spirulina platensis (mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen).(TAXONOMY 14

Elaya Perumal, U., & Sundararaj, R. (2020). Algae: A Potential Source to Prevent and Cure the Novel Coronavirus. International Journal on Emerging Technologies 11(2): 479-483)

EL-SHEEKH.M. , S.M.DABOOR . S. M . , SWELIM.M.A.,A.,S.MOHAMED . (2014). Production and characterization of antimicrobial active substance from Spirulina platensis . journal of microbiology . 6(2). 112-119.

ERGENE.A. , GULER .P. , TANS.S., MIRICI . S. , HAMMAOGLU. E . , DURAN . A. (2006). Antibacterial and antifungal activity of heracleum sphonodylium subsp . artvinense . African Journal of Biotechnology ;5 : 1087-1089.

-Falquet J. et Hurni J-P. (2006). Spiruline : aspects nutritionnels. Antenna Technologies

Farrar, W.V., 23 juillet, 1966: "Tecuitlatl, A Glimpse of Aztec Food Technology. Nature", n° 5047.

Fox D. et R. Spiruline : technique pratique et promesse. Aix en Provence : Edisud ; 1999.

Goulambasse T. R., 2018 : La Spiruline : Activités Thérapeutiques et son Intérêt dans la Lutte contre la Malnutrition à Madagascar, Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, université de Lille, p 9-16,46.

Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J. H. (2019). Spirulina platensis, a super food ? Journal of Cellular Biotechnology, 5(1), 43-54.

Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J. H. (2019). Spirulina platensis, a super food ? Journal of Cellular Biotechnology, 5(1), 43-54.

Kaushik P., Chauhan A., 2008:In vitro Antibacterial Activity of Laboratory Grown Culture of Spirulina platensis. Indian J. Microbiol. 48 :348–352.

Loïc Charpy, Marie José Langlade et Romain Alliod Août 2008)

Merceron M.,2006 :Les bactéries photosynthétiques productrices d'oxygène [en ligne]. C2006. [Consulté le : 15/5/2020]. Disponible sur

:http://membres.lyco.fr/neb5000/BacteriologieI/GroupesBacteriens/Bacteriesphotosynthetiques productrices doxygene.htm.

Michka, 2005 : La spiruline pour l'homme et la planète, Terra Magna Georg.

Ogbonna . J. C., & Tanaka . H. Light requirement and photosunthetic cell cultivation]developpement of processes for efficient light utilization in photobioreactors .Journal of applied phycology ,2000; 12:207-218,2000

Panigua-Michel J, Dujardin E, Sironval C. Histoire de spiruline, communication botanique (en ligne). c 2007.[consulté le : 24/01/2007].

Pendyala, B., & Patras, A. (2020). In silico Screening of Food Bioactive Compounds to Predict Potential Inhibitors of COVID-19 Main protease (Mpro) and RNA-dependent RNA polymerase (RdRp). ChemRxiv. Preprint. https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12051927.v2).

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

RANIA . M.A.A, TAHA . H.M. (2008). Anibacterial and Antifungal Activity of Cyanobacteria and Green Microalgae . Evaluation of Medium Componznts by Placket-Burman Design for Antimicrobial Activity of Spirulina platensis . Global J. Biotechnol . Biochem . 3(1) : 22-31 .

RATHI BHUVANESWARIL . G ., SHUKLAL .S.P., M . MAKESH1., THIRUMALAIS –ELVAN.S. , ARUN SUDHANGARS . S ., KOTHARI ARVINDSINGHD.C.(2013). Journal of Aquaculture –Bamidgeh , . 65(932). Pages .8

Ressources Éducatives Libres - data.abuledu.org [Internet]. [Cité 23oct 2017]. Les ressources libres du projet AbulÉdu Disponible sur:

Sall, M, Dankoko, B,Badaine, M,Ehua E, Kuakuwi , N. (1999) : la spiruline: une source alimentaire à promouvoir , Médecine d'Afrique noire ,Vol 46 ,N°3. 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.

Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Mühling, M., Whitton, B. 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, 172(2), 213-222.(TAXONOMIE)2

Sguera S., (2008). Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques.(INTRODUCTION

Sguera, S. (2008). Spirulina platensis et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré)(taxonomy15)

TRABELSI . L . , BEN OUADAH .H . , BASSA.H (2010) . Activités biologique des métabolites excrétés par la cyanobactérie flamentuses Arthrospira platensis . phytothérapie . 8 :282 -28

Tredici, M. R. (2004). "Mass production of microalgae: Photobioreactors". Handbook of **Microalgal Culture**: Biotechnology and Applied Phycology. Richmond, A., Blackwell. 178-214.

Tsygankov, A. A. (2001). "Laboratory Scale Photobioreactors." Applied Biochemistry and Microbiology 37 (4). 333-341.

VidaloJ.L.,2015: Spiruline, l'alguebleuedesantéetdeprévention,Livre,Chapitre3 / Cancer et Spiruline, p 101, Chapitre 16 / Universelle spiruline. A chacun son profil p.240.

Wittrock et Nordstedt. 1844:"Algaeaquaeduciaexsicc, fascicule XIV", Descriptionessystematicedispositae, n° 679,59p.

Xue C., Hu Y., Saito H., Zhang Z., Li Z., Cai Y., Ou C., Lin H., Imbs A. Molecular species composition of glycolipids from Spirulina platensis. Food Chemistry. 2002; 77: p. 9-13.

Yougbare I., 2007 : Impact de la Prise Quotidienne de Spirulinaplatensis sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience à Burkina Faso, Mémoire pour l'Obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, p11.

Zheng, J.; Inoguchi, T.; Sasaki, S.; Maeda, Y.; McCarty, M.F.; Fujii, M.; Ikeda, N.; Kobayashi, K.; Sonoda, N.; Takayanagi, R. Phycocyanin and phycocyanobilin from Spirulina platensis protect against diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., 2013, 304, 110-120.

Biblionet

https://www.bioutils.ch/protocoles/21-les-pigments

http://data.abuledu.org/wp/?terms=Cyanobact%C3%A9ries

http://www.sustainableguernsey.info

https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-svt/la-photosynthese-generalites

Annexes



Figure1.un spectrophotomètre.

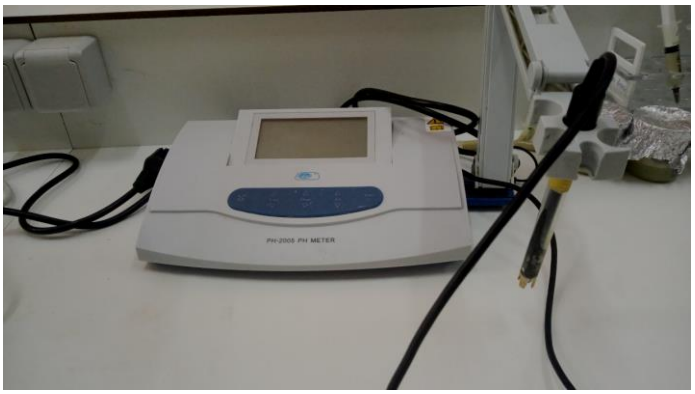


Figure2. PH mètre.



Figure 3. Un microscope optique



Figure4.Un étuve.



Figure5. Balance



Figure.6 un bec benzène



Figure.6 Un vortex

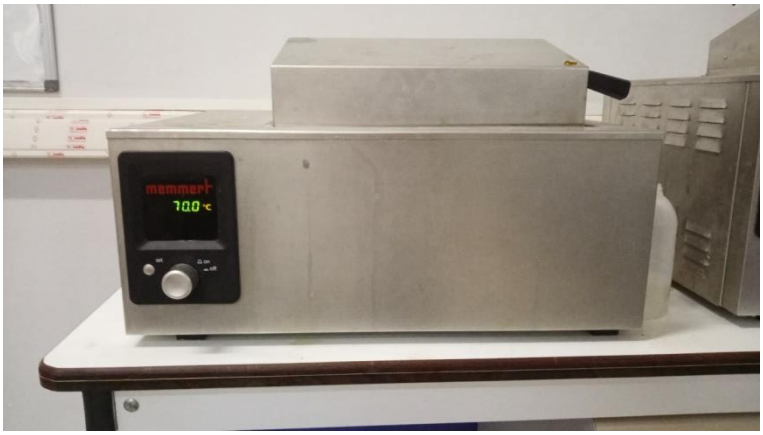


Figure. Un bain marie



Figure. Une centrifugeuse