



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Biochimie et Biologie cellulaire et moléculaire.

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Screening phytochimique des extraits de la microalgue *Spirulina platensis* provenant d'Algérie et de Malaisie et évaluation de leurs activités biologiques

Présenté par : ADOUANI Ikram Nour

Le : 22/06/2025

BOUALI Mounia

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. MEDOUKALI Imen (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr. OUELBANI Rayene (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinateuse : Dr. AYACHE Amina (MAA- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire 2024.2025

Remerciement

Nous remercions ALLAH le Tout-Puissant pour ses innombrables bienfaits visibles et invisibles. Merci pour Sa guidance, Sa force, la santé et la volonté qu'Il nous a accordé, et qui nous ont permis d'entamer et d'achever ce mémoire.

À chère Dr. Ouelbani Rayene,

Merci d'avoir été : Notre guide, notre inspiration, et la gardienne de notre potentiel. Votre héritage vivra dans nos réussites futures." Nous tenions à vous exprimer notre profonde gratitude pour votre accompagnement tout au long de ce parcours. Votre expertise, votre disponibilité et vos précieux conseils ont été d'une aide inestimable pour mener à bien ce travail. Votre rigueur intellectuelle et votre bienveillance ont su nous guider avec justesse, nous permettant de progresser tant sur le plan académique que personnel. Votre soutien constant et vos encouragements ont été une véritable source de motivation dans les moments les plus exigeants.

À Mes Chers Membres du Jury,

"Nous tenons à vous exprimer notre plus profonde gratitude pour l'honneur que vous nous avez fait en acceptant d'évaluer notre travail. Votre présence aujourd'hui représente bien plus qu'une évaluation – c'est le couronnement d'un long parcours collectif."

Chèr Ibrahim Khalil Chebel,

"Nous tenions à vous exprimer notre profonde gratitude pour votre leadership inspirant et vos précieux conseils. Votre accompagnement a été déterminant pour la réussite de ce projet".

"Nous n'oubliions pas votre aide, qui ait été technique, morale et intellectuelle. Ce mémoire est aussi le vôtre. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour nous".

Nous tenons également à exprimer notre gratitude à l'ensemble des enseignants et membres du personnel de l'université pour leur bienveillance, leur disponibilité et leur engagement. Leurs enseignements, conseils et soutien ont été déterminants dans l'acquisition des compétences scientifiques nécessaires à la réalisation de ce travail. Nos remerciements s'adressent tout particulièrement au responsable du laboratoire de biochimie au CRBt, Mr Bensouici Chaouki pour ses expertises techniques, ses accompagnement précieux et son aide dans la conduite de nos expérimentations. Aussi Mme Soumia ingénierie de labo de microbiologie pour tout ce qu'elle nous a présenté comme soutien et conseil précieux tout au long de notre pratique.



2
9
2
5

Dédicace

"**À toi, Maman,** Avec tout mon amour et ma gratitude, je dédie ce mémoire, fruit de tant d'efforts et de sacrifices. Tu as été ma force dans les moments de doute, ma lumière quand le chemin semblait obscur, et mon soutien inconditionnel à chaque étape de ce parcours. Merci pour tes encouragements, ta patience et ton amour sans limites. Ce diplôme est aussi le tien, car sans toi, rien de tout cela n'aurait été possible.

"**À toi, papa,** Tu m'as appris que le travail, la persévérance et l'humilité sont les clés qui ouvrent toutes les portes. Ce mémoire est le résultat des valeurs que tu m'as transmises et de la force que tu m'as donnée pour aller au bout de mes rêves. Merci pour ton soutien silencieux mais constant, pour tes conseils avisés et pour cette confiance en moi qui m'a porté même dans les moments les plus difficiles. Je sais que derrière chaque page de ce travail, il y a une part de toi.

"**À Oumnia, ma sœur étoile** – merci d'avoir éclairé chaque étape de ce chemin. Avec toi, même les défis avaient un goût de bonheur."." Merci d'être bien plus qu'une sœur - Merci d'être mon âme jumelle.

"**À mes frères,** mes premiers héros et éternels alliés : merci d'avoir rendu ce chemin moins rude. Ce diplôme est aussi le vôtre.

"**À mes nièces Yasmine, Younes** qui ont rempli ma vie de bonheur et de joie

"**Pour toi Yasmina mon âme sœur,** c'est la vie m'avait demandé de choisir une sœur, J'aurais choisi toi, Mille fois, dans mille vies différentes. « Tu es le soleil de ma vie, celle sans qui tout serait plus sombre. Ma sœur, mon amie, ma raison de croire en la beauté des liens qui ne se brisent jamais. Chaque souvenir avec toi est un trésor, chaque moment partagé une bénédiction. Tu es ma force quand je doute, ma joie quand je trébuche, et mon cœur bat au rythme de cette complicité que seule une sœur-à-mi peut comprendre. La vie nous pas donné le même sang, mais c'est toi qui as rempli chaque goutte d'amour pur, de rires contagieux et de cette fidélité qui défie le temps. Merci d'exister.

"**Pour ma douce étoile Nada,** qui as su être ma lumière quand les nuits d'écriture semblaient trop sombres. Ton soutien a été la clé qui a ouvert chaque porte, ton sourire l'énergie qui a chassé chaque doute. Ce mémoire est autant le tien que le mien, car sans toi, ces mots n'auraient jamais trouvé leur force ni leur sens. Merci d'avoir marché à mes côtés, même quand le chemin était incertain. Que ces pages gardent la trace de ma gratitude. Tu n'es pas juste une amie, Tu es la complice, la confidente, Finir nos études, c'est juste un nouveau début... Celui d'une amitié qui, elle, n'a pas de fin.

"**Pour Ikram, ma binôme** devenue famille ,4 ans. 48 mois. 1460 jours.

De complicité silencieuse devant des copies à corriger, De fous rires étouffés en pleine soutenance, De regards qui disaient "On abandonne ? - Jamais !"Notre amitié. Sans note à rendre, sans de adline, Juste infiniment précieuse. La seule capable de me faire aimer les travaux de groupe. Le labo n'était pas notre lieu de travail, mais notre terrain de jeu." Le diplôme, c'est éphémère. Toi et moi, c'est pour longtemps .

"**Pour Ncr,** ma source de motivation, mon refuge dans les moments de doute, Merci pour tes encouragements quand je doutais, Pour ta présence, simple et précieuse, qui a transformé chaque obstacle en défi à relever ensemble. Mon plus beau diplôme à toi, pour toujours.

Mounia



Dédicace

"À ma chère mère Nadia ", La femme de ma vie, ma confidente, mon pilier. Que Dieu te récompense pour chaque prière, chaque sacrifice et chaque mot d'encouragement que tu as semés sur mon chemin. Ton amour m'a portée, ta foi m'a guidée, et ta tendresse m'a enveloppée dans les moments les plus difficiles. Tu as su me rassurer, me motiver, me relever avec cette douceur unique aux mamans. Ce mémoire t'est dédié, avec tout mon cœur et toutes mes prières.

"À mon père Salim ", Ton silence a toujours parlé plus fort que les mots. Par ta présence discrète, ton regard plein de bienveillance et ton calme apaisant, tu m'as offert une force tranquille. Quand je doutais, tu étais là, sans jamais imposer, mais toujours prêt à soutenir.

Tu as cru en moi, même dans mes moments de faiblesse, et c'est cette confiance qui m'a portée. Merci d'avoir été ce pilier solide, ce repère silencieux, mais toujours présent dans mon cœur.

"À ma sœur Douaa, à mon frère Haider, et à mes petits trésors Mohamed et Khalida " Vous êtes mes complices, mes repères, mes sourires dans les moments de doute. Douaa, ta présence tendre et bienveillante a toujours su m'apaiser. Haider, ton soutien silencieux et ta force tranquille m'ont portée plus d'une fois. Mohamed et Khalida, vos rires innocents, votre affection pure et votre énergie m'ont donné le courage d'aller plus loin. Ce mémoire est aussi pour vous, avec tout mon amour de sœur.

"À ma cousine Sissa et à mon oncle Mourad, que Dieu ait leurs âmes en Sa miséricorde (رحمه الله) ". Votre absence se fait douloureusement ressentir, mais votre souvenir demeure vivant dans mon cœur. Vous étiez des rayons de lumière dans nos vies, et je dédie ce mémoire à votre mémoire, en espérant qu'il vous rende fiers là où vous reposez en paix.

"À Racha, ma cousine et amie d'enfance ", avec qui j'ai partagé tant de souvenirs, de secrets, de rêves. Merci pour ton affection, ta loyauté, et ta présence à mes côtés malgré les années. Ton amitié m'est précieuse et inestimable.

"À mes cousines Lina, Razan, Yousra, Houria, Dounia, Rahil, Boutaina, Joulia et Rahma
"Chacune de vous occupe une place précieuse dans mon cœur.

"À mes tantes Wajida, Aïcha, Faiza, Linda et Wahida", merci pour votre tendresse, votre douceur et vos mots qui réchauffent le cœur. Aussi à Nabila, épouse de mon oncle, merci pour ta gentillesse.

"À toute ma grande famille ", que ce soit proches ou plus éloignés, vous avez tous contribué à ce parcours, par vos prières, vos encouragements, vos mots d'espoir ou tout simplement votre amour.
Ce mémoire vous est aussi dédié.

"À toi, Mounia ", Ma binôme, mon amie, ma sœur de cœur dans cette belle aventure universitaire. Quatre années à tes côtés, c'est bien plus que des cours et des examens, c'est une complicité tissée jour après jour, faite de confiance, de soutien et d'une amitié profonde. Dans les moments de doute comme dans les éclats de rire, tu as toujours été là, avec ta force tranquille et ta générosité de cœur. Ce mémoire, c'est aussi le reflet de notre parcours commun, de notre détermination partagée et de tout ce que nous avons construit ensemble. Merci d'avoir été cette présence précieuse, fidèle et inspirante. Je suis fière d'avoir marché ce chemin à tes côtés, je t'aime beaucoup.

"À toi, Nada ", Une a précieuse rencontrée sur les bancs de l'université, avec qui j'ai partagé bien plus que des études. Ton sourire, ta bienveillance et ton écoute ont été une source de réconfort dans les moments les plus stressants, et une lumière dans cette belle aventure universitaire. Merci pour ta présence sincère, ton soutien discret mais toujours constant, et les souvenirs inoubliables que nous avons créés ensemble. Ton amitié a été l'un des plus beaux cadeaux de ces années d'étude.

Ikram



Liste des figures

Figure 1. Diversité morphologique des microalgues	4
Figure 2. Morphologie du thalle du laminaire du Japon	4
Figure 3. Répartition géographique de la Spiruline	7
Figure 4. Différents aspects de la Spiruline.....	8
Figure 5. Cycle biologique de reproduction de la Spiruline.....	8
Figure 6. La teneur nutritive de la spiruline (matière sèche).....	13
Figure 7. Squelette de base des composées phénoliques	17
Figure 8. Structure chimique de base des flavonoïdes	19
Figure 9. Différentes classes des flavonoïdes.....	19
Figure 10.A. Spiruline malaisienne en poudre	26
Figure 10.B. Spiruline en poudre cultivée à Biskra	26
Figure 11. Protocole d'extraction.....	32
Figure 12. Schéma des tests de détection des polyphénols, flavonoïdes, tanins et phénols.....	35
Figure 13. Schéma des tests de la détection des coumarines, des stérols et triterpènes, des coumarines, des quinones, des alcaloïdes et des glycosides cardiaques.....	37
Figure 14. Schéma des tests de la détection des composés réducteurs, anthocyanes, anthraquinones, et leuco anthocyanes.	38
Figure 15. Schéma de test de la détection des saponines.	39
Figure 16. Plaque CCM.....	40
Figure 17. Migration des constituants de l'extrait lors de la CCM.....	42
Figure 18. Réaction entre le Folin ciocalteu et les polyphénols	44
Figure 19. Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes.	45
Figure 20. Réaction chimique DPPH	46
Figure 21. Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur de H•	47
Figure 22. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe Tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).....	48
Figure 23. Récapitulatif des différentes solutions préparées.	50
Figure 24. Préparation des boites de Pétri.	51
Figure 25. Représentation graphique des rendements d'extraction en (%) des extraits de la Spiruline de deux régions.	53
Figure 26 A. Chromatogrammes des 6 extraits dans le spectre visible avant révélation dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).....	66

Figure 26 B. Chromatogrammes des 6 extraits dans le spectre visible avant révélation dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol : (40/20/20) (v/v/v).....	66
Figure 27 A. Chromatogrammes des 6 extraits sous UV 365 avant révélation dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol : (40/20/20) (v/v/v).....	66
Figure 27 B. Chromatogrammes des 6 extraits sous UV 365 nm avant révélation dans le système ...	66
Figure 28 A. Chromatogramme avant chauffage révélé avec KOH éthanolique (10%) sous UV 365nm dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).....	67
Figure 28 B. Chromatogramme après chauffage révélé avec le révélateur KOH éthanolique (10%) sous UV 365 nm dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).....	67
Figure 29. Chromatogramme avant chauffage révélé avec KOH éthanolique (10%) sous UV 365nm dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol :(40/20/20) (v/v/v).	67
Figure 30 A. Chromatogramme après chauffage révélé avec KOH méthanolique (10%) dans le spectre visible dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).	68
Figure 30 B. Chromatogramme après chauffage révélé avec le révélateur la vanilline sulfurique dans le spectre visible dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).....	68
Figure 31. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	69
Figure 32. Evaluation de la teneur de polyphénols totaux des extraits de Spiruline	70
Figure 33. La courbe d'étalonnage de la quercétine.....	72
Figure 34 . Evaluation de la teneur des flavonoïdes des extraits de Spiruline algérienne et malaisienne	72
Figure 35 A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits et des standards de deux régions dans l'activité antiradicalaire au DPPH.....	74
Figure 35B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité antiradicalaire au DPPH.	75
Figure 36 A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ et standards des extraits de deux régions dans l'activité du test ABTS.....	76
Figure 36 B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité du test ABTS.	77
Figure 37. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits et standards de deux régions dans l'activité du test FRAP.	78
Figure 38 A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits et standards de deux régions dans l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase.....	80
Figure 38 B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité antidiabétique.....	81

Figure 39 A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits et standards de deux régions dans l'activité anti-inflammatoire.....	83
Figure 39 B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC ₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité anti-inflammatoire.	83
Figure 40. Résultats de l'activité antibactérienne	87

Liste des tableaux

Tableau 1. Type des microalgue, leur caractéristique, et les pays.	3
Tableau 2. Type des macro-algue, leur caractéristique, et les pays.	4
Tableau 3. Classification des algues selon les pigments	5
Tableau 4. Caractéristiques communes des cyanobactéries aux algues et aux bactéries	6
Tableau 5. Classification de <i>Arthrospira platensis</i> , connue sous le nom de spirulina	9
Tableau 6. Analyse d'un milieu de culture typique	12
Tableau 7. Composition en minéraux de la Spiruline et doses requises	14
Tableau 8. Représente les classes des compose phénoliques.	18
Tableau 9. Outils, appareils et solutions utilisés pour le criblage phytochimique.....	27
Tableau10. Matériels, solutions, réactifs et les appareils usagés en macération méthanolique, dichlorométhane et acétate d'éthanolique.	28
Tableau 11. Matériels, solutions, réactifs utilisés pour le dosage quantitatif.	29
Tableau 12. Outils, appareils et solutions utilisés pour les activités biologiques.	30
Tableau 13. Systèmes solvants utilisés pour la CCM.	41
Tableau 14. Métabolites révélés par vanilline sulfurique.....	43
Tableau 15. Métabolites révélés par KOH (Wagner et Bladt, 1996).	43
Tableau 16. Résultats de la screening phytochimique de la Spiruline provenant de deux régions.	55
Tableau 17. Détection des phytoconstituants par différents révélateurs.	64
Tableau 18. Teneurs en polyphénols totaux des trois extraits de de Xb et Xm.	68
Tableau 19. Teneurs en flavonoïdes des trois extraits de Xb et Xm.	71
Tableau 20. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité antioxydante présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC_{50} calculées pour chaque extrait testé... ..	74
Tableau 21. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'activité anti diabétique présente les pourcentage inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC50 calculées pour chaque extract teste.....	80
Tableau 22. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'activité Anti-inflammatoire présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC_{50} calculées pour chaque extract teste.....	82
Tableau 23. Activité antibactérienne des extraits de la <i>Spirulina platensis</i> à différentes concentrations et celle des antibiotiques utilisés contre les diverses souches bactériennes exprimée en termes de diamètre d'inhibition.....	85

Tableau 24.Activité antibactérienne des antibiotiques utilisés contre les diverses souches bactériennes exprimée en termes de diamètre d'inhibition 86

Liste des abréviations

µg : Microgramme

µl : Microlitre

µmol : Micromole

ABTS^{•+} : Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6 sulfonique)

AcOEt : Acétate d'éthyle

AlCl₃ : Chloride d'Aluminium

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

BSA : Albumine sérique bovine

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

CH₃COOH : Acide acétique anhydre

CH₃-COOK : Acétate de Potassium

CHCl₃ : Chloroforme

CI₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 %.

Da : Dalton

DCM : dichlorométhane

DMSO : diméthylsulfoxyde

DPPH[•] : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil.

E. coli : *Escherichia coli*

EAG : Équivalent de l'acide gallique

EQ : Équivalent de la quercétine

FCR : Folin-Ciocalteu

Fe⁺³: Fer ferrique.

FeCl₃ : Chloride de Fer

FRAP : Pouvoir réducteur

g : Gramme

H₂SO₄ : Acide sulfurique

HCl : Chlorure d'Hydrogène

IL-1 β : Interleukine-1 β .

IL-6 : Interleukine 6.

KOH : Hydroxyde de Potassium

MeOH : méthanol

Mg: Metallic magnesium

ml : Millilitre

NaCO₃ : Carbonate de Sodium

NaOH : Hydroxyde de Sodium

nm : Nanomètre

Ppm : Partie par million

Rf : Rapport frontal

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SD : Standard Déviation

SOD : superoxyde dismutase

TFC : Contenu total en flavonoïdes

TNF α : Facteur de nécrose tumorale alpha

TPC : Contenu total en polyphénols

UV : Ultra-Violet

VIH-1 : virus de l'immunodéficience humaine.

Xb : souche algérienne

Xm : souche malaisienne

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : Revue bibliographique	
I.Présentation des algues.....	3
I .1. Phylogénie des algues.....	3
I.2. Morphologie	4
II. Présentation de la Spiruline	5
II.1. Historique	6
II.2. Géographique Origine, habitat.....	7
II.3. Morphologies de la <i>Spiruline</i>	7
II.4. Cycle biologique de la <i>Spiruline</i>.....	8
II.5. Taxonomie et classification.....	8
II.6. Production de la <i>Spiruline</i>.....	10
 II.6.1. Dans le monde.....	10
 II.6.2. Dans l'Algérie	10
III.7. Culture	11
Chapitre II : Etudes antérieurs de la spiruline	
I. Etude biochimique de la spiruline	13
 I.1. Composition et valeur nutritionnelle.....	13
 I .1 .2. Composition en protéines et acides aminés	13
 I.1 .3. Glucides	13
 I. 1.4. Lipides	14
 I.1 .5. Minéraux et oligoélément	14
 I.1.6. Enzymes	15
 I.1.7. Vitamines	15
 I.1.8. Pigments	15
II. Étude phytochimique de la Spiruline	17
 II .1. Métabolisme secondaire	17

II .1.1. Composés phénoliques	17
II.2.2.1.1Flavanoides.....	18
II.2.2.1.2. Tanins	19
II.1.2. Terpènes	20
II.1.3. Alcaloïdes	20
II.1.4. Quinones	20
II.1.5. Saponines	21
III. Activités biologiques de la Spiruline	21
III.1. Activité antioxydante	21
III.2. Activité anti-inflammatoire	21
III.3. Activité antibactérienne	21
III.4. Activité anticancéreuse	22
III.5. Activité Antidiabétique	22
III.6. Activités anti-toxicité	22

Chapitre I : Matériel et méthodes

I. Matériel.....	26
I.1 Matériel biologique	26
I .2. Matériel non biologique.....	27
II. Méthodes	31
II.1. Extraction des composés phénoliques	31
II.2.1. Criblage ou screening phytochimique	33
II.2.2. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	40
II.3. Analyse quantitative.....	43
II.3.1. Détermination du contenu total en polyphénols	43
II.4. Evaluation des activités biologiques	45
II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante	45
II.4.2. Evaluation de l'activité Antidiabétique	49
II.4.3. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire in-vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)	50
II.4.4. Evaluation d'Activité antibactérienne	51

Chapitre II : Résultats et discussion

I. Rendements des extraits	53
II. Screening phytotochimique	54

III.Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	63
IV. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur en flavonoïdes	68
IV.1. Détermination du contenu total en polyphénols	68
IV.2. Détermination de la teneur des flavonoïdes	71
V. Evaluation de l'activité antioxydante.....	73
V.a. Activité antiradicalaire au DPPH•	74
V.b. Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	76
V.c. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	78
VI. Evaluation de l'activité antidiabétique	80
V. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire in-vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA).....	82
V. Activité -anti bactériennes	84
<i>Conclusion et perspectives</i>	91
<i>Références bibliographiques</i>	93
<i>Annexes</i>	

INTRODUCTION

Depuis des siècles, les résidents côtiers et les Asiatiques ont eu recours aux algues. On continue chaque jour de découvrir de nouvelles espèces et propriétés de ces algues, qui renferment des molécules particulièrement pertinentes dans le domaine industriel (**Gantet et al., 1999 ; Guilherme et al., 2006**).

L'écosystème marin se distingue par sa spécificité, due à la variété d'organismes qu'il abrite. Selon **Cruchot (2008)**.

Actuellement, on dénombre environ 25 000 espèces d'algues sur la planète. L'algue microscopique *Arthrospira platensis*, généralement appelée *Spiruline*, est une cyanobactéries qui a vu le jour avec les premiers organismes vivants il y a environ 3,5 milliards d'années et qui est perçue comme la nourriture naturelle la plus complète de notre monde, en raison de ses qualités nutritionnelles, de sa culture facile, de sa grande productivité et de son coût modique, la *Spiruline* peut être vue comme une source alimentaire non traditionnelle (capable d'abriter jusqu'à 70% de protéines). Elle est riche en minéraux, oligo-éléments et multiples vitamines (**Sall, 1999**), et a été adoptée par plusieurs Organisations Non Gouvernementales (ONG) et associations engagées contre la malnutrition comme un aliment de préférence, elle se distingue par la présence de composés actifs et biochimiques qui présentent des propriétés thérapeutiques et des bénéfices prometteurs, elle est riche en antioxydants, essentiels pour la santé des humains, elle préserve la santé du cœur, du foie et des reins, renforce le système immunitaire et la mémoire et combat les maladies malignes, elle sert de remède distinct et offre un soutien énergétique presque immédiat à l'organisme, elle augmente également l'endurance et diminue la fatigue (**Uddin et al., 2018**).

En de plus, la *Spiruline* contient des pigments bénéfiques comme la chlorophylle et la phycocyanine, qui ont prouvé leurs vertus antioxydantes et anti-inflammatoires. Qui peuvent être employés dans l'alimentation humaine en tant que supplément nutritionnel (**Soizic, 2019**).

Selon **Ahsan et al. (2008)**, elle est utilisée comme alimentation humaine (90%) et animale (10%) et pour l'alimentation des poissons et de la volaille ...etc.

En raison de ses propriétés, la *Spiruline* a été l'objet de cultures développées dans les zones où elle se trouve naturellement ; en Afrique, en Asie et en Amérique, mais aussi dans des exploitations spécifiquement dédiées à sa production à une échelle industrielle (**Sguera, 2008**).

L'Algérie présente une diversité notable d'algues, tant naturelles que cultivées. Ce qui a incité notre choix de l'espèce *Arthrospira platensis*, une algue bleu-vert appartenant à la famille des *Oscillatoriaceae*.

L'objectif de cette étude est de faire une étude phytochimique de l'algue bleue verte connue sous le nom de *Spirulina platensis* qui est cultivée dans deux régions différentes : l'Algérie et la Malaisie ; faire aussi un screening de différents métabolites secondaires, afin d'évaluer ses propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti inflammatoire et antidiabétique.

Pour cela, nous avons structuré notre travail comme suit :

La première partie a été consacrée à des généralités et des données bibliographiques. Le premier chapitre abordera une description portant sur l'étude bibliographique sur les algues d'une manière générale et sur la *Spiruline* (*genre Arthrospira platensis*) d'une manière spécifique.

Le deuxième chapitre sera consacré à une étude biochimique et phytochimique et rôles biologiques de l'espèce.

Quant à La deuxième partie, elle comprend la partie pratique de nos travaux repartie entre la partie matériel et méthodes et la discussion des résultats de l'étude phytochimique de la microalgue en considération.

PARTIE I

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

Revue bibliographique

I. Présentation des algues

La science qui s'intéresse à l'étude des algues est appelée phycologie, et non pas « Algologie » comme on pourrait le croire. Elles constituent un embranchement distinct au sein du règne végétal.

Les algues sont des organismes simples, généralement unicellulaires. Elles sont dépourvues de racines, de fleurs, de feuilles et de tiges, et c'est pourquoi une grande partie d'entre elles est verte, étant donné qu'elles contiennent une forte concentration de chlorophylle. Cependant, on observe aussi dans la nature des teintes brunes, rouges, orangées ou jaunes. On peut également observer certaines algues à l'œil nu (par exemple : algues filamenteuses) et d'autres qui ont l'apparence de végétaux aquatiques (**laurenkenze, 2009**).

Les algues constituent un ensemble taxonomique regroupant divers organismes aquatiques simples, ainsi que des êtres qui habitent des environnements humides comme les roches humides, les troncs d'arbres, les tas de mousse ou la terre mouillée (**Lee, 1989**).

I .1. Phylogénie des algues

La phylogénie des algues est influencée par divers facteurs écologiques, physiologiques et biochimiques, tels que les structures cellulaires, les modes de nutrition, les habitats, ainsi que la nature et l'emplacement des pigments et glucanes de réserve. En dépit de leur extrême diversité et complexité structurelle, que ce soit à l'échelle macroscopique ou microscopique, on peut néanmoins les organiser en une dizaine d'embranchements selon des critères basés sur la composition de leurs pigments, la nature de leurs polysaccharides de réserve ou certaines caractéristiques structurelles (**Reviers, 2002**).

Figure 1.Type des microalgue, leur caractéristique, et les pays.

<i>Microalgue</i>	<i>Caractéristique</i>	<i>Pays de culture</i>
<i>Spirulina</i> (<i>Arthrosphaera platensis</i>)	Riche en protéine, Anti oxydant, pigments	Chine, inde, États-Unis, France
<i>Chlorella</i> (<i>Chlorella vulgaris</i>)	Détoxifiante, Riche en chlorophylle	Japon, Taïwan, Allemagne, France
<i>Haematococcus pluviales</i>	Source d'astaxanthine	États-Unis, Chine, japon
<i>Dunaliella salina</i>	Riche en beta carotène, nutriment	Australie, Espagne

Tableau 02. Type des macro-algue, leur caractéristique, et les pays.

Type de macro algue	Caractéristiques	Pays du culture
<i>Phaeophyta</i> (Algues brunes)	Contiennent de la fucoxanthine, souvent présentes en milieu marin.	Espagne, Portugal, Norvège, Chili, Australie, Nouvelle-Zélande
<i>Rhodophyta</i> (Algues rouges)	Contiennent des phycobilines, souvent marines.	France, Japon, Grèce, Caraïbes, Indonésie
<i>Chlorophyta</i> (Algues vertes)	Contiennent de la chlorophylle a et b, peuvent être marines ou d'eau douce.	France, États-Unis, Japon, Canada, Royaume-Uni
<i>Ulvophyceae</i> (Algues vertes marines)	Algues vertes marines, souvent en forme de frondes plates, tabulaires. Utilisées en cuisine.	Japon, France Chine, Corée

I.2. Morphologie

La base de données internationale sur les algues "Algae Base" répertorie environ 30 000 noms d'espèces, dont la plupart sont des microalgues (**Guiry, 1996**).

Les algues présentent une grande diversité de formes. Effectivement, elles peuvent être unicellulaires ou multicellulaires, fixes ou en mouvement, microscopiques ou macroscopique. Habituellement, ces organismes se composent d'un thalle et d'un pied qui permet leur attachement à un support, ce pied peut se présenter sous différentes formes telles que rhizoïde, crampon ou disque, et la configuration du thalle varie considérablement selon les espèces (**Barralon, 2016**).

On peut observer diverses formes chez les microalgues : fréquemment sphériques (*porphyridium*), en forme de lune (*clostridium*), spiralées (*Arthrosphaera*), en petites gouttes (*chlamydomonas*) et même étoilées (*Staurastrum*) (figure 2).

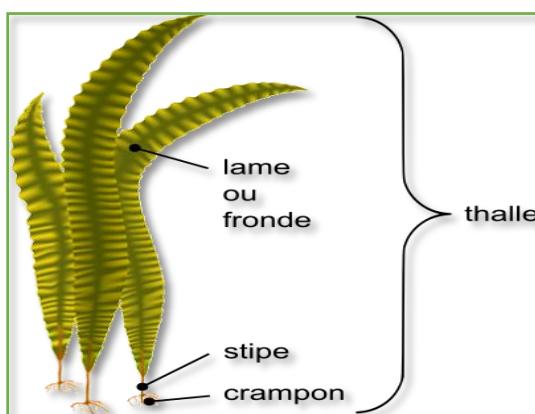


Figure 01. Morphologie du thalle du laminaire du Japon (*Laminaria japonica*) (Auxbulles, 2008).

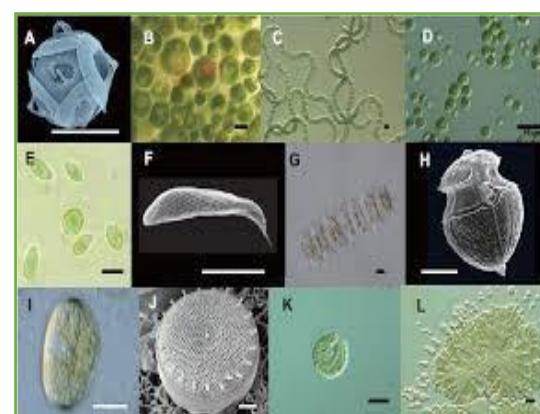


Figure 02. Diversité morphologique des microalgues (Sumi, 2009).

I. 3. Classification des algues

Généralement, les algues sont classées en quatre catégories (algues vertes, algues rouges, algues brunes, algues bleues) distinctes par leur couleur. Chaque catégorie comprend plusieurs classes et chaque classe abrite des centaines d'espèces (**Sandrine Garon, 2004**).

Tableau 03. Classification des algues selon les pigments (**demoulan, 2009**).

<i>Embranchement</i>	<i>Nom commun</i>	<i>Nombre espèce</i>	<i>Pigment</i>	<i>Habitat</i>
<i>Chlorophycées</i>	Algue vert	7500	Chl a ; b Xanthophylle	Eau douce : salée ; terrestre
<i>Rhodophycées</i>	Algue rouge	3900	Chl a Xanthophylle Caroténoïde	Eau douce ; saumâtre, salée
<i>Phéophycées</i>	Algue brunes	1500	Ch. a et b Xanthophylle	Eau saumâtre et salée
<i>Cyanophycées</i>	Algue bleu	15000	Chl Phycocyanine	Eau sale, saumâtre

II. Présentation de la Spiruline

La *Spiruline* est une cyanobactéries microscopique et filamentuse qui a été nommée d'après la structure hélicoïdale ou spiralée de ses filaments (**Karkos et al., 2011**). Une ancienne cyanobactéries (mesurant 0,3 mm de long), connue scientifiquement sous le nom

D ‘ « *Arthrospira platensis* », se manifeste en un filament pluricellulaire bleu-vert, mobile et non ramifié qui s'enroule en spirale. Comme les plantes, elle tire son énergie de la photosynthèse et se développe naturellement dans les lacs salés et alcalins des zones chaudes du monde (**Jordan, 1999 ; Cruchot, 2008**).

Effectivement, elle est catégorisée en tant que « algues bleu-vert », pour diverses raisons (**Cruchot, 2008**) :

- ✓ Son milieu de vie aquatique.
- ✓ L’existence d’un système photosynthétique générateur d’oxygène.
- ✓ Sa capacité à engendrer d’importantes biomasses.
- ✓ Sa morphologie similaire à celle des algues.
- ✓ Sa teinte associée à sa composition en pigments bleus (phycocyanine) et verts (chlorophylle).

Elle est reconnue comme l'un des aliments les plus nutritifs de la planète (**Jung et al., 2019**).

▪ Spiruline une algue ou une bactérie

La *Spiruline* est un procaryote de type gram négatif qui appartient à la famille des cyanobactéries. Bien que les cyanobactéries autotrophes (un groupe qui peut utiliser l'énergie lumineuse pour la photosynthèse) (**Roger, 2006**).

Tableau 04. Caractéristiques communes des cyanobactéries aux algues et aux bactéries (**Bernard, 2014**).

<i>Algues</i>	<i>Bactéries</i>
-Chlorophylle a / Deux photosystèmes I et II -Photosynthèse : production d'O ₂ -pigments photosynthétiques : phycobiliprotéines	-Absence de membrane nucléaire -Absence de mitochondries -Absence de réticulum endoplasmiques et dictyosome, paroi cellulaire gram négative : muréine

II.1. Historique

La *Spiruline* a une histoire qui remonte jusqu'au 16 siècle, époque à laquelle elle était déjà cueillie par les Aztèques dans les vastes lacs salés du Mexique. En 1519, le conquérant Cortés s'est rendu au Mexique et a été surpris de constater l'usage que faisaient les Aztèques de la *Spiruline* comme aliment. Elle était offerte sur les marchés aux côtés de bijoux, de médicaments, d'animaux et de poteries. Les Aztèques les appelaient « tecuitlatl », ou petits gâteaux, et les proposaient sur les marchés locaux comme accompagnement pour les sauces ou mélangés avec des grains. Si l'on remonte davantage dans le temps, on trouve des indications que les Mayas, durant la période de 300 à 900 après J.-C., cultivaient de la *Spiruline* dans leurs canaux qui servaient également à l'irrigation de leurs plantations (**Antonio Piccolo**).

Lors de la conférence internationale sur les protéines microscopiques et la conférence alimentaire des Nations unies en 1974, la *Spiruline* a été désignée comme « nourriture de santé supérieure du XXIème siècle » (**Vidalo, 2008**).

Les chercheurs belges démontreront par la suite qu'ils sont extrêmement riches en protéines (**Leonard et al., 1967**).

En 1976, La valeur alimentaire des spirulines a été clairement établie par (**Delpeuch et al., 1975**).

En 1996, l'Organisation mondiale de la santé a proclamé la *Spiruline* comme « meilleure nourriture pour l'avenir » (Lupatini et al., 2017).

II.2. Géographique Origine, habitat

La *Spiruline* se développe préférentiellement dans des environnements aquatiques chauds, alcalins et riches en nutriments, notamment en azote et en phosphore. Elle est principalement observée dans les lacs salins et les eaux saumâtres des zones tropicales et subtropicales. Grâce à sa grande plasticité écologique, elle colonise naturellement les lacs alcalins de plusieurs régions du globe, notamment en Afrique (Tchad, Éthiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou) et en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cette cyanobactérie est qualifiée d'ubiquiste. Toutefois, sa distribution reste limitée en Amérique du Nord et en Europe en raison de son caractère thermophile et de son exigence élevée en lumière.

Ces contraintes restreignent son aire de répartition principalement aux zones situées entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud (Koru, 2012).



Figure 03. Répartition géographique de la *Spiruline* (Louvel, 2019).

II.3. Morphologies de la *spiruline*

La *Spiruline* est une cyanophycée microscopique mesurant en moyenne environ 250µm de long. Elle est constituée de filaments mobiles non ramifiés de 10 à 12µm de diamètre, disposés en spirale, généralement en six ou sept tours (Figure 04). Cette forme spiralée lui confère l'apparence d'un petit ressort. (Batello et al., 2014).

Ils ont une paroi de type classique Gram-négatif. Bien qu'ils possèdent un système de photosynthèse similaire à celui des eucaryotes, ils demeurent de réels procaryotes (organismes qui n'ont pas de membrane nucléaire) (Gershwin, 2009).

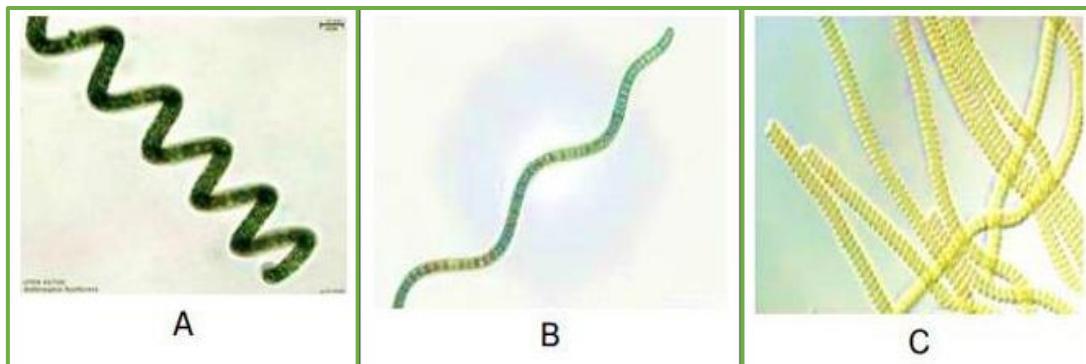


Figure 04. Différents aspects de la Spiruline A = Forme spiralée (*Arthrospira fusiformes*), B=Forme ondulée (*Spirulina maxima*) , C=*Arthrospira platensis* (Goulamabasse, 2018).

II.4. Cycle biologique de la *Spiruline*

La *Spiruline* se propage par un mode végétatif, une reproduction asexuée qui s'appuie sur le processus de la bipartition via une scission simple. Il s'agit donc d'un processus de segmentation des filaments qui se déroule en plusieurs phases.

Une fois arrivés à maturité, les filaments de *Spiruline* se transforment en nécridies, des cellules qui présentent une apparence concave, cela entraîne la fragmentation du trichome à partir des nécridies, aboutissant à la formation de nouveaux filaments composés de 2 à 4 cellules, appelés hormogonies. Ces organismes se reproduisent par scissiparité, adoptant la forme hélicoïdale caractéristique, chaque cellule se divise en deux lors de la division (Figure 05) (Manet, 2016).

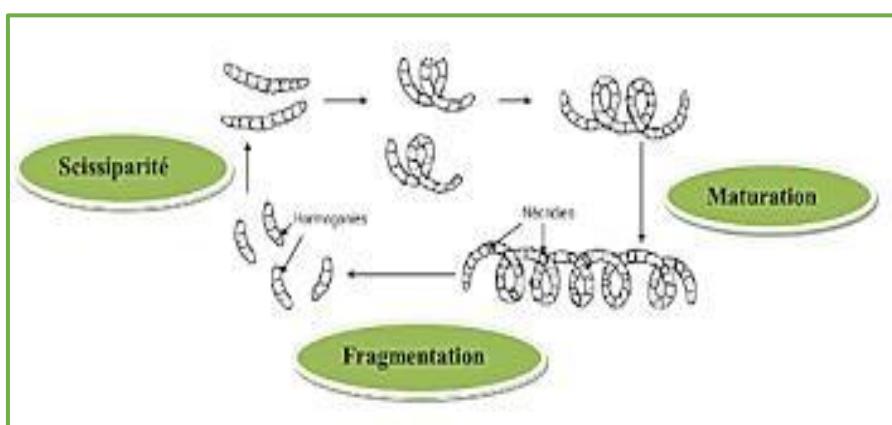


Figure 05. Cycle biologique de reproduction de la *Spiruline* (Charpy et al., 2008).

II.5. Taxonomie et classification

La *Spiruline*, grâce à sa chlorophylle, se rattache au règne végétal, tandis que ses cellules procaryotes la lient au règne animal, étant donné qu'elles présentent des similarités avec celles des bactéries. Cette double liaison lui confère des caractéristiques uniques et distinctives qui la classent parmi les cyanobactéries (**Doumenge et al., 1993**).

Il faut souligner qu'il existe parfois une confusion réelle entre les termes « *Spiruline* », « *Spirulina* » et « *Arthrospira* ». Ces méprises résultent à la fois d'inexactitudes dans les classifications scientifiques des années 1950 et de l'appellation commerciale de certaines cyanobactéries comestibles (**Cruchot, 2008**). Il convient de noter que le mot « *Spiruline* » fait référence à l'appellation commerciale d'une cyanobactérie qui appartient toujours au genre « *Arthrospira* ». Tandis que « *Spirulina* » est le terme anglais pour désigner la même cyanobactérie, mais il se réfère également à un genre de cyanobactéries étroitement lié à *Arthrospira*, et principalement non comestible. Quant à « *Arthrospira* » est le nom scientifique (genre) d'un groupe de cyanobactéries comprenant la Spiruline comestible (**Fox, 1999 ; Legeard, 2005**).

Quant à sa classification, on dénombre plusieurs espèces aux différences principalement géographiques : *Spirulina platensis* est l'espèce prédominante en Afrique, *S. geitleri* est celle du Mexique (**Arrignon, 2002**), aussi appelée *Spirulina maxima* (**Vonshak, 1997**), *S. lonar* se trouve au lac Lonar en Inde, *S. orovilca* habite au lac Orovilca, *S. Paracas* prospère dans les bassins d'eau près de Paracas et *S. ventanilla* est présente au Pérou. On trouve également la *S. crater* au Mexique et la *S. Tamanrasset* en Algérie (**Fox, 1999**).

Tableau 05. Classification de *Spirulina platensis* (**Alfadhlly et al., 2022**).

Noms communs	Classes taxonomiques
<i>Bacteria</i>	Domaine
<i>Eubacterla</i>	Règne
<i>Cyanobacteria</i>	Phylum
<i>Cyaniphyceae</i>	Classe
<i>Oscillatoriophycideae</i>	Sous-classe
<i>Oscillatoriales</i>	Ordre
<i>Osellatorlaceae</i>	Famille
<i>Arthrospira</i>	Genre
<i>A. platensis</i>	Espèce

II.6. Production de la *Spiruline*

À part la récolte naturelle de la *Spiruline* provenant des lacs, sa production est nécessaire pour répondre à la demande. La culture en bassin est le seul moyen d'en produire en grande quantité. Selon l'espace total utilisé pour l'exploitation des bassins et les technologies mises en œuvre, on distingue plusieurs types de culture, à savoir : la culture familiale, la culture industrielle, la culture artisanale et la production en conteneurs.

II.6.1. Dans le monde

Arthrospira, également connue sous le nom de *Spirulina platensis*, est une microalgue qui est cultivée à grande échelle au niveau mondial. Selon les données de (**Cubia, 2000**), la production mondiale de ce premier élément a connu une augmentation de plus de 4000 tonnes par an depuis 1995.

La *Spiruline* peut être cultivée de trois façons différentes (traditionnelle, semi-industrielle, industrielle), grâce à des conditions optimales (pH, salinité, température) qui favorisent automatiquement son développement. Sa production atteint cinq mille tonnes chaque année. D'un point de vue économique, sa valeur se trouve dans l'intervalle de 487 000 EGP (uniquement quatre cent quatre-vingt-sept mille livres égyptiennes), à peu près en fonction des cours du marché. Il sert à nourrir principalement les humains (90%) et les animaux (10%), notamment les poissons et la volaille, etc.... (**Ahsan et al., 2008**).

Le marché de la *Spiruline* est dominé par d'importantes sociétés qui génèrent de gros volumes et détiennent des étendues vastes pour leur culture. La Chine, qui occupe la première place en matière de production, fournit presque la moitié du marché, suivie de près par les États-Unis. La France en retire aussi des avantages via les fermes de production ou les entités de revente (**Langlade et al., 2010**).

II.6.2. Dans l'Algérie

La culture de la *Spiruline* en Algérie reste à un stade principalement artisanal et expérimental. Une ferme pilote a été implantée au début des années 2000 dans le sud du pays, plus précisément dans la wilaya de Tamanrasset, sous l'initiative du Dr Hiri Abdelkader, l'un des rares experts nationaux des procédés de production de la *Spiruline*. Située au niveau de l'agence 4x4, à Aderrin, à environ 5 km de la ville de Tamanrasset, cette ferme s'étend sur une superficie de 120 m². Elle comprend deux bassins fixes, couverts, de 4 m² chacun, ainsi que trois bassins de réserve en plastique renforcés par des structures métalliques. L'ensemble des bassins permet une production maximale estimée à 20 kg de *Spiruline* par an (**Lounici, 2010 ; Bouchenafa, 2020**).

En parallèle, un projet de ferme de *Spiruline*, visant une capacité de production théorique de deux tonnes par an, est en cours de développement dans la wilaya de Ghardaïa. Gérée par une jeune ingénierie en aquaculture, cette exploitation s'étendra sur un terrain de 5 hectares, situé dans la commune de Mansourah, à 70 km au sud de Ghardaïa (**D.P.R.H., 2016-2018 ; Bouchenafa, 2020**).

Plus récemment, des initiatives novatrices ont vu le jour dans d'autres régions du pays, témoignant d'une évolution vers une production plus structurée et durable. À cet égard, la ferme de *Spiruline* de Biskra illustre avec force le potentiel de l'agriculture durable dans les environnements arides. Grâce à des méthodes innovantes et respectueuses de l'environnement, elle parvient à produire une *Spiruline* de haute qualité, reconnue pour ses bienfaits sur la santé humaine et son impact positif sur l'écosystème local. À travers ce projet, la *Spiruline* de Biskra devient bien plus qu'un simple produit : elle incarne un engagement en faveur d'une agriculture responsable et d'un avenir plus sain pour tous (**Info – Al Kiram Bio**).

III.7. Culture

III.7.1. Condition de culture

Trois facteurs essentiels sont déterminants pour la culture de la *Spiruline*. Les facteurs environnementaux tels que la température, la lumière et le pH.

❖ Température

Les premiers repères concernant les températures sont à peu près les mêmes que pour l'homme, 37°C. Au-dessus, est considéré comme une température trop élevée (43°C peut être mortel). En dessous, la vitesse de multiplication baisse avec la température. A 20°C, la croissance est pratiquement stoppée. La température du milieu de culture doit donc se situer à cet intervalle (**Jourdan, 2006**).

❖ La lumière

Deux conditions sont nécessaires pour la croissance de la *Spiruline* :

- Ensemencer le bassin avec assez d'algues pour que la lumière ne puisse pas atteindre le fond du bassin. La vérification peut se faire avec un simple disque de Secchi.
- Agiter suffisamment la culture pour que les filaments individuels ne restent pas plus d'une demi-minute à la surface en plein soleil, mais plongent et remontent fréquemment. Les « roues à aubes » constituent les systèmes d'agitation les plus utilisés ; le but est de remuer l'eau et non pas de créer un dénivellement comme on le croit généralement (**Fox, 1999**).

❖ PH

Le pH optimal pour la culture de la *Spiruline*, est compris entre 8,5 et 10,5 (**Jordan, 1999**), naturellement, la *Spiruline* à tendance à alcaliniser le milieu. En effet le CO₂ dissous dans l'eau, une fois mobilisé par la *Spiruline*, libèrent des ions carbonates (CO₃)²⁻ qu'hydrolysant vont libérer des ions OH- (**Danesiet et al., 2004**). D'autres facteurs moins importants seront aussi à prendre en compte comme le salinité et l'agitation du milieu.

❖ L'eau

En présence d'une eau dure, des précipitations minérales peuvent se former, sous forme de boues contenant du calcium, du magnésium et du fer. Ces dépôts, dont l'abondance dépend de la concentration de ces éléments, décantent rapidement et ne perturbent pas significativement la culture, à condition que l'ensemencement initial en *Spiruline* soit suffisamment concentré. Toutefois, si la dureté de l'eau est excessive, un traitement préalable est recommandé afin de limiter l'accumulation de sédiments pouvant altérer les conditions de culture (**Jordan, 1999**).

❖ Milieu de culture

C'est une imitation artificielle de l'environnement naturel dans lequel *la spiruline* se développe. En effet, c'est une solution alcaline et natronée composée d'un mélange d'eau et de sels minéraux, fournissant à la *Spiruline* les éléments chimiques dont elle a besoin (**Jourdan, 014**), à savoir : azote (N), phosphore (P), potassium (K). Le tableau N°06 présente la composition chimique d'un milieu de culture standard (**Fox, 1999**).

Tableau 06. Analyse d'un milieu de culture typique (**Fox, 1999**).

Élément	Concentration en mg /l
Bicarbonate	2800
Phosphate	614
Sulfate	25
Chlore	350
Sodium	3030
Potassium	4380
Magnésium	642
Calcium	10
Aluminium	5
Ammoniaque	5

CHAPITRE II

Études antérieures de la spiruline

I. Etude biochimique de la spiruline

I.1. Composition et valeur nutritionnelle

En principe générale, la *Spiruline* contient 70% de protéines, 15% de glucides, 5% de lipides, 7% de minéraux et 3% d'eau. Cette composition est très complète et diversifiée : riche en protéines, bien équilibrée en lipides, incluant des glucides, vitamines, minéraux et oligo-éléments (**All et al., 1999**).

La *Spiruline* utilisée en alimentation humaine grâce à de nombreux facteurs nutritifs les plus intéressantes présentes. La composition chimique des *Spirulines* est variable selon les conditions.

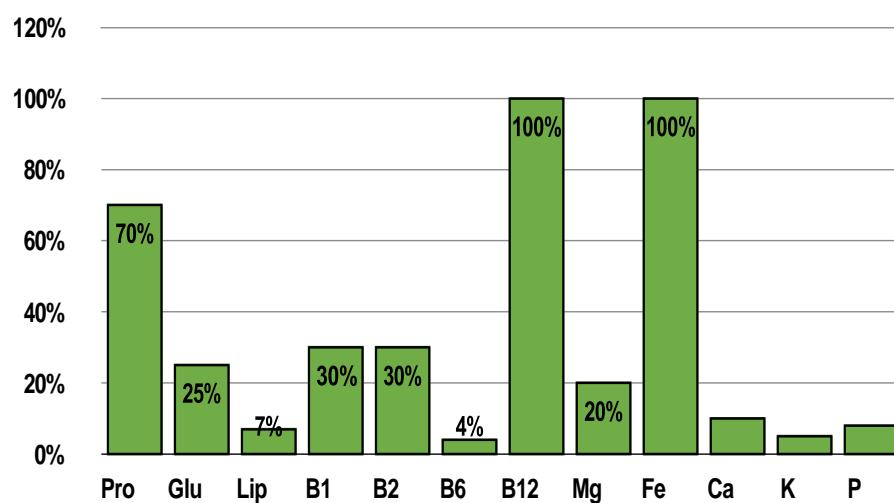


Figure 06. La teneur nutritive de la *Spiruline* (matière sèche) (**Clement, 1975 ; Fox, 1999**).

I.1.2. Composition en protéines et acides aminés

La *Spiruline* présente un intérêt majeur grâce à sa fraction protéique qui peut constituer 60 à 70 % de sa masse sèche (**Gutierrez-Salmean, 2015**). Possédant une proportion élevée d'acides aminés essentiels (47 %) (**Gershwin et al., 2008**). Qualitativement parlant, la protéine de *Spiruline* est complète, c'est à dire qu'elle renferme tous les acides aminés indispensables et possède une qualité supérieure (**Jourdan, 2006**).

I.1.3. Glucides

La proportion de glucides dans la *Spiruline* peut varier de 14 à 19% (**Gershwin et al., 2008**). Selon une étude, la matière sèche contient 15 % de glucides, dont 12 % sont des polysaccharides, répartis en 2 % de glucosanes et 10 % de rhamnosanes (**Quillet, 1975**).

Les autres glucides mentionnés incluent des mono- ou disaccharides tels que le glucose, le fructose, le saccharose, ainsi que des cyclitols phosphatés (**Santillan et al., 1982**).

I. 1.4. Lipides

La *Spiruline* présente généralement une teneur en lipides totaux (surtout sous forme de di- et triglycérides) qui ne dépasse pas 10 %. La *Spiruline* présente une composition en acides gras qui peut varier considérablement.

On retrouve dans les acides palmitique (25-60 %), γ -linoléique (4-40 %), linoléique (5-30 %) et oléique (5-17,5 %) sont prédominants (**Diraman et al., 2009**).

La présence d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne (acides docosahexaénoïque et eicosapentaénoïque) est variable, étant généralement inférieure à 5% (**Diraman et al., 2009**). Les écrits mentionnent la présence de lipides soufrés, tels que les esters d'acides gras, de glycérol et de sucres sulfatés, qui sont en moindre proportion (**Kwei et al., 2011**). La portion insaponifiable des lipides (approximativement 13 % de la totalité des lipides) renferme des stérols, des triterpènes à cinq cycles, des hydrocarbures et divers pigments (**Falquet, 2006**).

I.1 .5. Minéraux et oligoélément

La *Spiruline* contient tous les minéraux indispensables (7% de sa masse sèche). Elle absorbe davantage ou moins de minéraux en fonction du pH et de la composition du milieu de culture, ce qui engendre des concentrations variables (**Goulambasse, 2018**).

Les minéraux et oligoéléments les plus importants contenus dans la *Spiruline* Sont le fer, le zinc, le magnésium, le calcium, le phosphore et le potassium (**Niangoran, 2017**).

Tableau 07. Composition en minéraux de la *Spiruline* et doses requises (**Goulambasse, 2018**).

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Doses requises (mg/jour)
Calcium	1300 – 1400	1200
Phosphore	6700 – 9000	1000
Magnésium	2000 – 2900	250 – 350
Fer	580 – 1800	18
Zinc	21 – 40	15
Cuivre	8 – 10	1.5 – 3
Chrome	2.8	0.5 – 2
Sodium	4500	500
Potassium	6400 – 15400	3500

I.1.6. Enzymes

La *Spiruline* renferme un bon teneur de SOD (Super Oxyde Dismutase) (1.000 à 4.000 UI/g), une enzyme antioxydante puissante, qui fait partie essentielle du système cellulaire de défense contre le stress oxydatif (**Melle Louvel Soizic, 2019**).

I.1.7. Vitamines

I.1.7.1 Vitamine hydrosolubles

La *Spiruline* est riche en vitamines du complexe B (**Santillan 1982, Clement, Giddey et Menzi 1967**) on y trouve la B1 (environ 40-50 mg/kg), la B2 (30-45 mg/kg), la B3 (130-150 mg/kg), la B5 (4,5-25 mg/kg), la B6 (1-8 mg/kg) et la B12 (0,1-2 mg/kg) (**Gershwin et Belay , 2008**).

La *Spiruline* contient au moins deux types d'analogues de la vitamine B12, dont le principal (80%) est une pseudo-vitamine B12 qui ne se lie pas au facteur intrinsèque, ce qui la rend inactive (**Watanabe et al., 2007**).

I.1.7.2 Vitamines liposolubles

Pour eux, ils sont solubles dans les lipides. Ces vitamines présentent un risque de surconsommation, pouvant provoquer des effets indésirables. Une accumulation peut avoir lieu dans le foie et les tissus graisseux du corps humain. Illustré par les vitamines A, D, E et K (**Morgan Proy, 2019**).

I.1.8. Pigments

Les trois principaux pigments contenus dans la *Spiruline*, responsables de sa couleur, sont la chlorophylle, la phycocyanine et la β carotène (**Sguera, 2008**).

I.1.8.1 Chlorophylle

Le pigment responsable de sa couleur verte, La chlorophylle est l'un des pigments présents naturellement dans la *Spiruline*, et avec la chlorella, elle figure parmi les aliments les plus riches en ce composant, affichant un taux de 1% (**Casal, 2012**).

Bien que les plantes exploitent cela pour des processus de photosynthèse, c'est une substance entièrement assimilable par le corps, sa structure biomoléculaire étant analogue à celle de l'hémoglobine (**Casal, 2012**).

I.1.8.2 Phycocyanine

D'après diverses sources, la couleur bleue serait responsable de 12,6% à 20% du poids à l'état sec (**Patel, 2013**).

La qualité du produit est directement associée à la concentration ; une concentration plus élevée signifie une meilleure qualité (**Casal, 2012**).

Il favorise la production de globules rouges, stimule l'activité musculaire, freine le développement des cellules cancéreuses et purifie notre corps en éliminant toute substance chimique néfaste (**Schmitz, 2014**).

Des études en vivo démontrent que la consommation de *Spiruline* influence positivement la prévention et la diminution de maladies telles que le cancer, les affections cardiovasculaires, le vieillissement hâtif, les maladies contagieuses ainsi que l'affaiblissement du système (**Manoj et al., 1992 ; Girardin, 2005**).

I.1.9.3 caroténoïdes

Dont la couleur peut aller du jaune au rouge (**Morgan Proy, 2019**), Le β-carotène, qui est une provitamine A, constitue la majorité des caroténoïdes présents (50 à 80 %). On mesure généralement dans la *Spiruline* des concentrations de β-carotène allant de 1,4 à 1,7 mg/g (**Gershwin et Belay, 2008**).

Des études réalisées sur plusieurs années aux États-Unis et au Japon ont démontré que la *Spiruline* fournit une quantité significative d'antioxydants indispensables à notre corps : (La *Spiruline* en possède environ trente fois plus que les carottes).

Les caroténoïdes ont un effet anti-radicalaire. Ils participent également à l'expansion et à l'évolution de l'individu, tout en soutenant la vision nocturne. De plus, leurs propriétés anti-inflammatoires et anticancéreuses sont fréquemment documentées dans les revues scientifiques (**Falquet et al., 2006**).

II. Étude phytochimique de la *Spiruline*

II .1. Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures et présentent une distribution limitée au sein de l'organisme végétal. Plus de 200 000 structures ont été identifiées, affichant une diversité structurale exceptionnelle, bien qu'elles soient générées en quantité limitée (**Won Yun K., Maun, 2007**).

II .1.1. Composés phénoliques

II.1.1.1. Définition

Les métabolites secondaires phénoliques se distinguent par un cycle aromatique qui porte des groupements hydroxyles libres ou liés à des glucides. On les retrouve dans toutes les composantes des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et ils jouent un rôle dans divers processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits (**Boizot, 2006**).

Concernant les composés phénoliques, leur présence a été observée, comme le mentionnent (**Kambou, 2018**) qui ont indiqué une présence sensible des polyphénols dans la *Spiruline*.

II.1.1.2. Principales classes des composés phénoliques

La classification des polyphénols est basée principalement sur leur structure, le nombre de noyaux aromatiques et les composants structuraux qui unissent ces noyaux. On distingue généralement deux types : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (**Harrington et al., 1994, Halliwell et Gutteridge, 1992**).

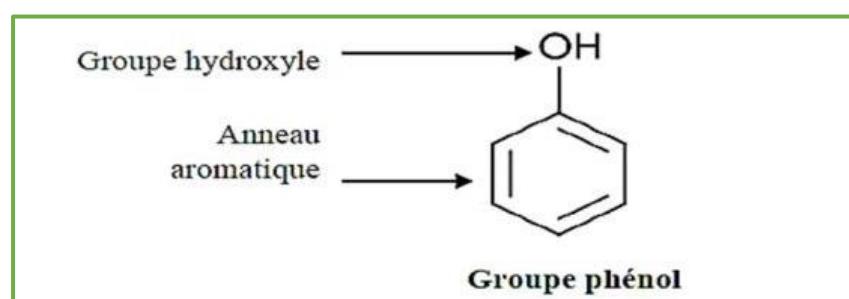
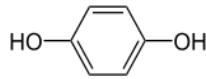
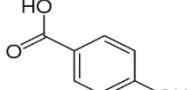
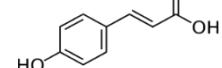
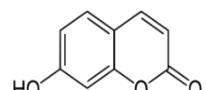
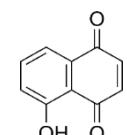
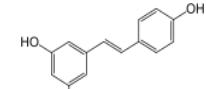
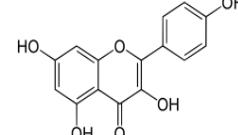


Figure 07. Squelette de base des composés phénoliques (**Girotti-Chanu, 2006**).

Tableau 08. Représente les classes des composés phénoliques.

<i>Squelette carboné</i>	<i>Classe</i>	<i>Exemple</i>	<i>Formule</i>
<i>C6</i>	Phénols simples	Hydroquinone	
<i>C6-C1</i>	Acides hydroxy benzoïques	Acide parahydroxybenzoïque	
	Acides hydroxy cinnamiques	Acide p-coumarique	
	Coumarines	Ombelliférone	
<i>C6-C4</i>	Naphtoquinones	Juglon	
<i>C6-C2-C6</i>	Stilbеноïdes	Trans-resvératrol	
	Flavonoïdes	Kaempférol	
<i>C6-C3-C6</i>	<i>Isoflavonoïdes</i>	Daidzéine	

II.2.2.1.1 Flavanoides

Le terme flavonoïde, dérivé du mot latin « *flavus* » représentant « jaune », fait référence à une large gamme de composés naturels qui appartiennent à la catégorie des polyphénols (**Bouakaz, 2006**).

Les flavonoïdes se distinguent par une structure de base contenant quinze atomes de carbone (C6-C3-C6), comprenant deux cycles benzéniques A et B connectés par une chaîne de trois atomes de carbone (**Heller, 1980**).

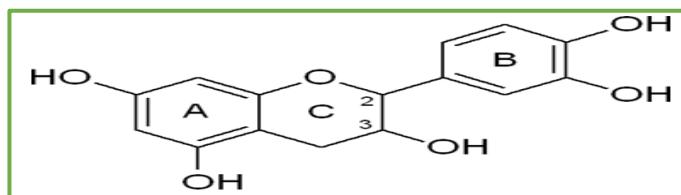


Figure 08. Structure chimique de base des flavonoïdes (Achat, 2013).

La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation permettent de distinguer les différentes classes des flavonoïdes (Figure 09) (**Manchando et Cheynier, 2006**).

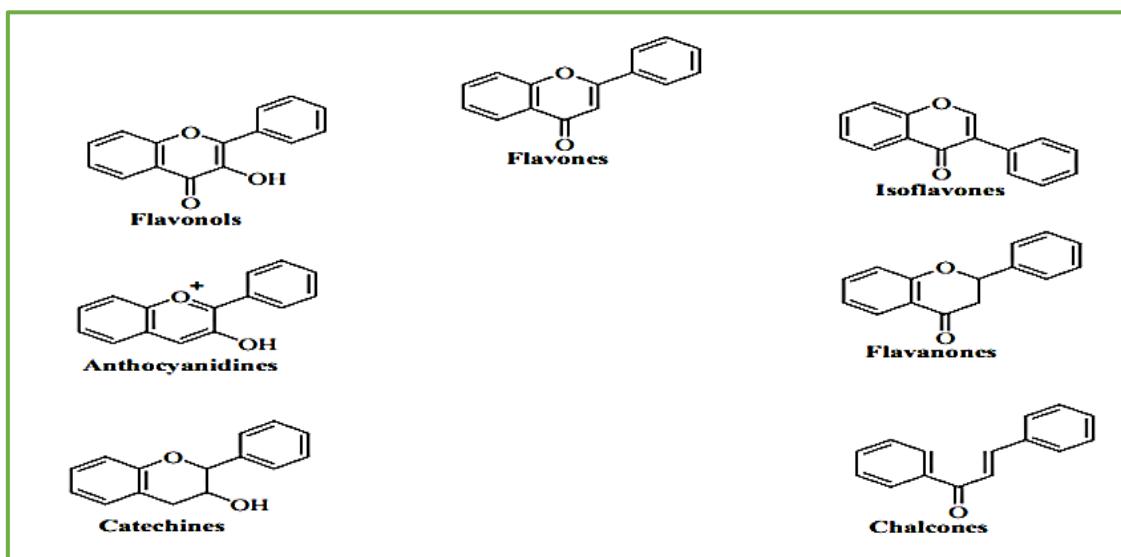


Figure 09. Différentes classes des flavonoïdes (Bouchouka, 2016).

L'analyse phytochimique réalisée dans l'étude de **Kambou et al. (2018)** et (**Makhloifi, 2010**) a permis d'identifier plusieurs métabolites secondaires, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, dans *Spirulina platensis*.

II.2.2.1.2. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques dont la masse moléculaire varie entre 500 et 4000 kda. Ils se trouvent généralement associés à d'autres biomolécules telles que les alcaloïdes, les polysaccharides et les protéines (**Huang, 2009**).

On distingue deux grandes catégories de tanins, qui diffèrent par leur structure chimique : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (**Hygerman, 1988**).

II.1.2. Terpènes

La grande majorité des terpènes sont propres au règne végétal, bien que certains puissent également être présents chez les animaux (**Manchado et Cheynie, 2006**). Ces composés sont dérivés de l'isoprène (C_5H_8) et suivent une formule générale sous la forme de multiples de cette unité, soit $(C_5H_8)_n$. Leur structure est généralement polycyclique et varie en fonction des groupes fonctionnels ainsi que de l'organisation de leur squelette hydrocarboné (**Fontanay, 2012**).

II.1.2.1. Triterpènes

Les triterpènes sont des composés à 30 atomes de carbone (C_{30}), représentant une vaste famille de plus de 4000 molécules structurées autour de plus de 40 types de squelettes distincts (**Bruneton, 2009**). Ils englobent plusieurs groupes de substances et incluent de nombreux composés biologiquement essentiels, tels que les stérols, les saponines et certaines hormones (**Richter, 1993**).

Concernant les triterpénoïdes, leur présence a été observée, comme le mentionnent **Lahcini, Achab et Dahnoun, (2022)** dans leur étude sur l'activité biologique des extraits éthanolique et méthanoïque de *Spirulina platensis*.

II.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés organiques, majoritairement d'origine végétale, caractérisés par la présence d'azote et une nature basique (**Zenk et Juenger, 2007**). Leur biosynthèse se déroule principalement au niveau du réticulum endoplasmique (**Guignard et al., 1985**).

Selon **Kannan et al. (2014)**, l'analyse phytochimique de *Spirulina platensis* a permis de mettre en évidence la présence de divers composés bioactifs, notamment des alcaloïdes.

II.1.4. Quinones

On les nomme également benzoquinones ($C_6H_4O_2$), elles constituent l'un des deux isomères de la cyclohexadiénedione. L'orthobenzoquinone correspond à la 1,2-dione, tandis que la parabenzoquinone se définit comme la 1,4-dione (**Calsamiglia, 2007**).

Selon **Arif et al. (2009)**, les quinones sont des noyaux aromatiques comportant deux substitutions cétoniques. On les trouve partout dans la nature et elles présentent une grande réactivité. Ces substances colorées sont à l'origine du phénomène de brunissement dans les fruits et plantes qui ont été coupés ou blessés (**Cowan, 1999**).

L'analyse phytochimique réalisée dans l'étude de (**Nowicka, 2016**) a permis d'identifier, ménaquinones dans *Spirulina platensis*. Ainsi que l'étude de (**Nelson, 2004**) identifie phylloquinone et plastoquinones dans la *Spirulina platensis*.

II.1.5. Saponines

Les saponines sont des composés largement présents dans les plantes médicinales. Elles appartiennent à la classe des hétérosides et sont chimiquement constituées de molécules glycosidiques de nature triterpénique ou stéroïdique (**Olezek, 2002**). Leur principale caractéristique est leur propriété tensioactive, qui leur permet de se dissoudre dans l'eau en formant des solutions moussantes (**Bruneton, 2009**).

La présence significative de saponosides a été observée, comme le rapportent **Bougoffa et Hamidi (2020)** dans leur étude sur l'activité antibactérienne de l'extrait de la *Spirulina platensis* sur différentes souches pathogènes.

III. Activités biologiques de la Spiruline

III.1. Activité antioxydante

La *Spiruline* est reconnue comme un antioxydant exceptionnel grâce à ses principaux composants : la phycocyanine, le bêta-carotène, les polyphénols, la superoxyde dismutase (SOD), ainsi que d'autres vitamines et minéraux qu'elle contient. Plusieurs recherches, tant *in vitro* qu'*in vivo*, ont identifié cette potentielle action de la *Spiruline* (ou de ses dérivés) et ont confirmé que le recours à la *Spiruline* diminue considérablement le stress oxydatif (**Goulambasse, 2018**).

III.2. Activité anti-inflammatoire

La *Spiruline*, riche en protéines et en acides gras, notamment les oméga 3 et 6 qui ne peuvent être synthétisés par le corps humain, présente un intérêt biologique particulier. En effet, ces acides sont des précurseurs des prostaglandines, molécules ayant une action anti-inflammatoire et immunostimulante au sein de l'organisme (**Charpy et al., 2008**).

Une étude de **Jiang et al. (2022)** a montré que la spiruline enrichie en sélénium pouvait diminuer les taux de cytokines, telles que l'IL-6, l'IL-1 β et le TNF- α . Ces actions anti-inflammatoires combinées font de la spiruline un candidat prometteur pour la prévention et la gestion des maladies inflammatoires.

III.3. Activité antibactérienne

La *Spiruline* possède de stratégies de protection pour lutter contre les bactéries nuisibles. Effectivement, des recherches *in vitro* sur des extraits de *Spiruline* appliqués aux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* ont mis en évidence une activité antimicrobienne potentielle (**Kaushik et Chauhan, 2008**).

La *Spiruline*, grâce à son action régulatrice microbienne, peut inhiber la flore intestinale. Les propriétés antibactériennes de la *Spiruline* pourraient défendre l'hôte contre les infections.

La composition du microbiote est généralement liée à divers facteurs (**Melle Louvel Soizic, 2019**).

III.4. Activité anticancéreuse

De nombreuses études ont mis en évidence les propriétés anticancéreuses de la *Spiruline*, notamment grâce à la présence du bêta-carotène, un puissant antioxydant. Ce composé jouerait un rôle clé dans l'inhibition du développement des cellules cancéreuses et pourrait contribuer à inverser le processus tumoral. Une étude menée sur des patients atteints de leucoplasie buccale, une affection précancéreuse de la cavité buccale, a montré qu'une consommation quotidienne de 1 g de spiruline pendant un an avait entraîné une amélioration significative de leur état, freinant ainsi la progression de la pathologie. Par ailleurs, la phycocyanine, un autre composé actif de la *Spiruline*, participe également à cette activité anticancéreuse en neutralisant les radicaux libres, connus pour leur rôle dans l'apparition et le développement du cancer (**Vidalo, 2015**).

III.5. Activité Antidiabétique

Il a été démontré que la spiruline contribue à la régulation du diabète en réduisant le taux sanguin de glucose et de cholestérol. Une consommation quotidienne de *Spiruline* est ainsi recommandée pour le contrôle du profil glyco-lipidique chez les personnes diabétiques (**Mani et al., 1996**).

En particulier, la fraction hydrosoluble de la *Spiruline* possède la capacité de diminuer le taux de glucose sérique. Une étude a mis en évidence qu'une prise quotidienne de 5 g entraînait une amélioration significative et un meilleur contrôle du diabète (**Hayashi, 1996**).

Par ailleurs, la *Spiruline* est classée parmi les superaliments, en raison de ses multiples bienfaits sur la santé générale. Son impact sur la glycémie a été confirmé par une étude menée en Inde, où une consommation de 2 g par jour pendant deux mois a permis une meilleure régulation du taux de sucre sanguin, grâce à sa teneur élevée en antioxydants (**Bail, 2014**).

III.6. Activités anti-toxicité

D'après une étude récente **d'Ebaïd et al., (2017)**, *S. platensis* aurait un effet protecteur contre la toxicité hépatique induite par l'application de nanoparticules de cuivre. Ils ont validé le rôle bénéfique de *S. platensis* en tant que marqueurs antioxydants qui amélioreraient les Paramètres de la fonction hépatique (**Rajesh et Kala, 2015 ; Shao et al., 2019**).

IV. Méthodes d'évaluation des activités biologiques

IV.1. Évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes ont été mises au point pour l'estimation in vitro du pouvoir antioxydant d'un échantillon, on citera les méthodes les plus utilisées :

✓ Méthode de piégeage du radical libre DPPH•

Fut l'un des premiers radicaux libres employés pour examiner le lien structure-activité antioxydante. Il détient un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (**Perovskites et Realated, 2004**).

✓ Méthode à l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzthiazoline-6) sulfonique (ABTS)

Elle se base sur la décoloration observée lorsque le cation radicalaire ABTS⁺ est transformé en ABTS par des antioxydants (**Riveropérez, 2007**).

✓ Méthode de la capacité d'absorption des radicaux d'oxygène (ORAC)

Technique de mesure de la capacité à absorber les radicaux oxygénés (ORAC) : Cette méthode, qui utilise la fluorescence d'un pigment dérivé d'algues, est fondée sur l'effet des antioxydants qui bloquent les radicaux pyroxylés (**Rivero-pérez, 2007**).

✓ Méthode du CUPRAC

Ce test repose sur les changements dans les propriétés d'absorption du complexe néocuproïne (Nc) cuivre (II) lorsqu'il est réduit par un antioxydant. L'échantillon ou l'échantillon, qui a le potentiel de réduire Cu⁺² en Cu⁺¹ (**Özyürek et al., 2011**).

✓ Activité antioxydante totale (TAC)

Il s'agit d'une technique qui repose sur la réduction du molybdate en molybdène Mo⁵ MoO²⁺, grâce à l'extrait, pour générer un complexe vert de phosphate Mo⁵ dans un environnement acide (**Prieto et al., 1999**).

✓ Activité de réduction par la formation du complexe Fe⁺².phenanthroline

C'est une technique facile qui repose sur la création d'un complexe Fe⁺².phenanthroline à partir du fer aqueux sous sa forme réduite (Fe⁺²), pouvant être mesuré par spectrophotométrie. Ce complexe se forme en présence de 1-10-phénanthroline (aussi appelée orthophénanthroline) dans une solution à un pH de 3,4 (**Adhikamsetty et al., 1973**).

IV .2. Évaluation de l'activité anti-inflammatoire

a) In vitro

✓ Évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique)

Le test se base sur stabilisation des globules rouges, suite à l'induction d'une hémolyse par une solution hypotonique accompagnée d'une élévation de température, selon la méthode établie par (Ganesh-Gadamsetty et al., 2013).

✓ Inhibition de la dénaturation des protéines (albumine bovine)

Cette technique mesure la capacité d'une substance à empêcher la dénaturation thermique de l'albumine, un processus lié à l'inflammation, selon le protocole réalisé par (Mizushima & Kobayashi, 1968).

✓ Inhibition enzymatique de la cyclooxygénase (COX)

L'activité anti-inflammatoire peut être évaluée en mesurant l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine E₂ (PGE₂), un médiateur clé de l'inflammation. Cette mesure est réalisée après stimulation des cellules par un agent inflammatoire, en présence ou absence du composé testé. La concentration de PGE₂ est quantifiée par des méthodes ELISA ou spectrophotométriques (Smith et al., 2000).

b) In vivo

✓ Oedème de la patte induit par la carraghénine chez le rat

Le test de l'oedème à la carraghénine chez le rat, développé par Winter et al. (1962), est une méthode standard pour évaluer l'activité anti-inflammatoire aiguë en mesurant l'inhibition de l'oedème induit par l'injection sous-cutanée de carraghénine dans la patte postérieure du rat.

✓ Oedème auriculaire induit par le xylène chez la souris

Le modèle d'oedème auriculaire induit par le xylène chez la souris (Atta & Alkofahi, 1998) permet d'évaluer l'activité anti-inflammatoire topique. Dans ce test, l'application locale de xylène provoque une réaction inflammatoire aiguë caractérisée par un oedème du pavillon auriculaire. La mesure de la réduction de cet oedème après application du traitement testé sert d'indicateur d'efficacité anti-inflammatoire, particulièrement utile pour évaluer les formulations topiques (crèmes, gels) et les composés à action locale.

✓ Test de perméabilité vasculaire induite par l'acide acétique

Le test de perméabilité vasculaire à l'acide acétique évalue l'effet anti-inflammatoire d'un composé en mesurant sa capacité à réduire l'exsudation plasmatique induite par l'acide acétique chez la souris (Whittle, 1964).

IV.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

✓ Méthode de diffusion sur gélose (disques diffusion ou puits)

La méthode de diffusion sur gélose consiste à appliquer un extrait ou un antibiotique sur une gélose préalablement ensemencée avec une souche bactérienne ; après incubation, l'activité antibactérienne est évaluée par la mesure du diamètre de l'halo d'inhibition formé autour du disque ou du puits (**Bauer et al., 1966**).

✓ Méthode de dilution (en milieu liquide ou en gélose)

Cette méthode permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), correspondant à la plus faible concentration d'un extrait capable d'inhiber visiblement la croissance bactérienne (**Wiegand et al., 2008**).

✓ Méthode de temps de destruction (Time-Kill Assay)

La méthode de temps de destruction (Time-Kill Assay) évalue la cinétique de réduction des bactéries viables en présence d'un agent antibactérien, permettant ainsi de distinguer une activité bactéricide d'une activité bactériostatique (**Eliopoulos et al., 1996**).

Variante automatisée de la méthode de dilution, cette technique utilise des microplaques pour tester différentes concentrations et permet de lire la CMI par mesure d'absorbance ou coloration (**CLSI M07-A10., 2015**).

IV.4. Évaluation de l'activité anti-diabétique

a) In vitro

✓ Inhibition de l' α -amylase et de l' α -glucosidase

Ces enzymes sont impliquées dans la digestion des glucides. Leur inhibition permet de ralentir l'absorption du glucose après un repas (**Kazeem et al., 2013**).

b) In vivo

✓ Test de tolérance au glucose (GTT)

Ce test consiste à administrer du glucose après le traitement avec l'extrait étudié, puis à surveiller l'évolution de la glycémie à différents intervalles afin d'évaluer l'efficacité de la régulation glycémique (**Van Belle et al., 2011**).

✓ Induction du diabète par la streptozotocine (STZ) ou alloxane chez le rat

Ces agents provoquent la destruction des cellules β du pancréas, entraînant ainsi un modèle expérimental de diabète de type 1 (ou mixte), dans lequel l'efficacité d'un extrait est évaluée par sa capacité à réduire la glycémie (**Lenzen, 2008**).

PARTIE II

ETUDE EXPERIMENTALE



CHAPITRE I

Matériel et méthodes

I. Matériel

I.1 Matériel biologique

- **Origine des souches de *Spiruline***

Notre travail consiste à l'étude phytochimique des extraits de l'algue bleu-vert :

Spirulina platensis.

On a utilisé deux souches de *Spiruline* :

La première souche, cultivée en Algérie provenant de zones de culture artisanale dans la région de Biskra. La *Spiruline* a été cultivée dans un environnement enrichi en minéraux essentiels à sa croissance, où les conditions de culture et de production sont bien maîtrisées. Le choix de cette matière biologique a été fait, principalement en raison de sa teneur importante en composés bioactifs. (Photo A).

La deuxième souche, d'origine malaisienne, nous a été fournie par un achat commercial. (Photo B).

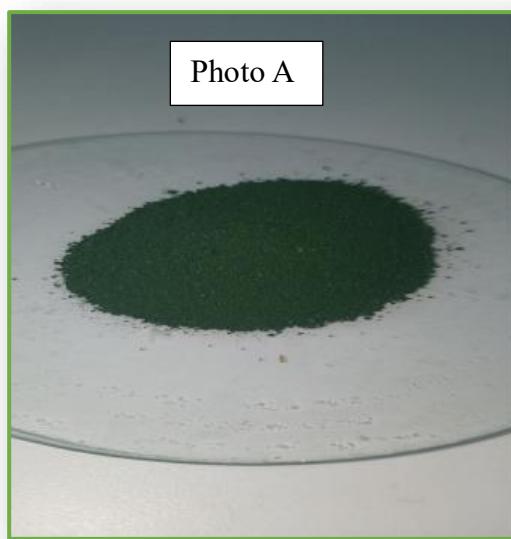


Photo A

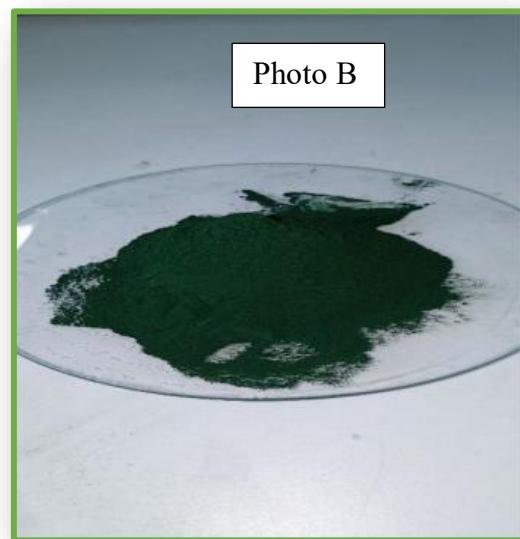


Photo B

Figure 10.A. *Spiruline* malaisienne en poudre. (Photo personnelle).

Figure 10.B. *Spiruline* cultivée à Biskra en poudre. (Photo personnelle).

I .2. Matériel non biologique

Il concerne tout le matériel, autre que biologiques, qui sont : la verrerie, les appareils ainsi que les réactifs chimiques et organiques utilisés dans le cadre de recherches expérimentales.

- **Criblage phytochimique**

Nous avons fait appel aux outils, équipements, solutions et réactifs cité dans le tableau ci-dessous, lors du processus de criblage phytochimique.

Tableau 9. Outils, appareils et solutions utilisés pour le criblage phytochimique.

Appareils	Solution/Réactifs	Outils
Balance Analytique	FeCl ₃ (1 % et 10 %)	Tubes à essai
Hotte aspirante	Acide chlorhydrique (HCL)	Pipettes
Agitateur	Éthanol	Fiole jaugée
Vortex	Chloroforme	Spatule
Bain -marie	Acide sulfurique concentré	Béchers
Etuve	NH ₄ OH NaOH (10 %) Liqueur de Fehling Réactif de Dragendorff Magnésium métallique (Mg) Acide acétique anhydre Alcool iso-amylque Eau distillée (H ₂ O)	Verres de montre Pinces Pipette graduée Éprouvettes

- **Extraction**

Pour la préparation des extraits mentionnés dans le tableau ci-dessous, nous avons utilisé les outils, équipements et solutions qui y sont spécifiés.

Tableau 10. Matériels, solutions, réactifs et les appareils usagés en macération méthanolique, dichlorométhane et acétate d'éthanolique.

<i>Appareils</i>	<i>Solution/Réactifs</i>	<i>Outils</i>
Rota vapeur	Méthanol	Matériel biologique
Balance analytique	Dichlorométhane	Becher
Hotte aspirante	Acétate d'éthyle	Erlenmeyer Éprouvette graduée Spatule Entonnoir Papier filtre Ballon Tubes à essais Pipette Pro Pipette Papier aluminium Boite de pétri en verre

- **Dosage quantitatif des composés phénoliques**

Pour le dosage quantitatif des composés phénoliques, nous avons utilisé les outils, et solutions énumérées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11. Matériels, solutions, réactifs utilisés pour le dosage quantitative.

<i>Test</i>	<i>Solutions</i>	<i>Outils</i>
Dosage des polyphénols totaux (TPC)	Réactif Folin-ciocalteu (10%) Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7,5%) Méthanol Acide gallique	Extraits Micropipette Eppendorf Spatule
Dosage des flavonoïdes (TF)	$\text{AlCl}_3(2\%)$ Méthanol Acide quercétine	

- **Activités biologiques**

Pour les activités biologiques, nous avons utilisé les outils, solutions, et appareils énumérés : dans le tableau ci-dessous :

Tableau 12. Outils, appareils et solutions utilisés pour les activités biologiques.

<i>Activité biologique</i>	<i>Appareil</i>	<i>Outils</i>	<i>Solution</i>
Piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhy- drazil)	Ultra sonner Lecteur de microplaques à 96 puits Spectrophotomètre UV-visible jenway	Extraits Erlenmeyer Tubes Eppendorf Embouts bleus et jaunes	Solutions DPPH methanolique Méthanol BHA /BHT
Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	Ph mètre Vortex	Micropipette Micro plaque	Solution ABTS $K_2S_2O_8$ Eau distillée
Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	Hotte microbiologique Bain Marie Etuve	Bec bunsen Boite de pétri Ecouvillons Micro-filtres Disques stériles (6mm) Pinces stériles	BHA/BHT $K_3Fe(CN)_6$ Eau distille TCA L'acide ascorbique $FeCl_3$
Activité anti-diabétique			α -amylase Tampon phosphate Amidon Eau distille KI Iodine (5mM) HCl Acarbose
Activité anti inflammatoire			BSA Tris HCL Eau bi distillée Diclofénac
Activité anti-bactérienne			Gélose Mueller Hinton DMSO Bouillon nutritif Eau physiologique McFarland

II. Méthodes

II.1. Extraction des composés phénoliques

L'extraction est une procédure visant à isoler certains composés de la plante par différentes méthodes (**Herodež et al., 2003**).

Plusieurs techniques, telles que l'infusion, la décoction et la macération, sont utilisées pour extraire les principes actifs (**Azzi, 2013**). Dans le cadre de notre recherche, nous avons employé le procédé de macération à froid en utilisant trois solvants de polarités différentes.

II.1.1. Macération méthanolique CH₃OH

La macération consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide. Un poids de 20 g de matériel biologique est mélangé avec 200 ml de méthanol. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 h, puis filtré.

L'extraction est répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par Rota vapeur à 40°C jusqu'à l'évaporation totale de méthanol.

II.1.2. Macération dichlorométhanique CH₂Cl₂

20 g de matière végétale (poudre de *Spiruline*) ont été placés dans un erlenmeyer contenant 400 ml de dichlorométhane. Le mélange est laissé séjourner pendant 24 heures. Par la suite, l'extraction a été répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par Rotavapeur à 40°C jusqu'à l'évaporation complète de dichlorométhane.

II.1.3. Macération d'acétate éthyle C₄H₈O₂

Nous avons mis en contact 20 g de poudre de *Spiruline* avec 200 ml d'acétate d'éthyle dans un erlenmeyer, puis agité manuellement. Le mélange a ensuite été laissé à température ambiante pendant 24 heures avant d'être filtré à l'aide du papier Wattman. Cette macération a été répétée trois fois pour épuiser le matériel végétal. L'extrait obtenu est concentré par Rota vapeur à 40°C jusqu'à l'évaporation totale d'acétate éthyle.

II.1.4. Rendement des macérations

Le rendement en pourcentage (%), est défini comme étant le rapport entre la masse D'extrait et celle de la plante sèche en poudre. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = (\text{PB} / \text{PA}) \times 100$$

PB : poids d'extrait brut

PA : poids de la plante sèche en poudre (**Abe et al., 2010**).

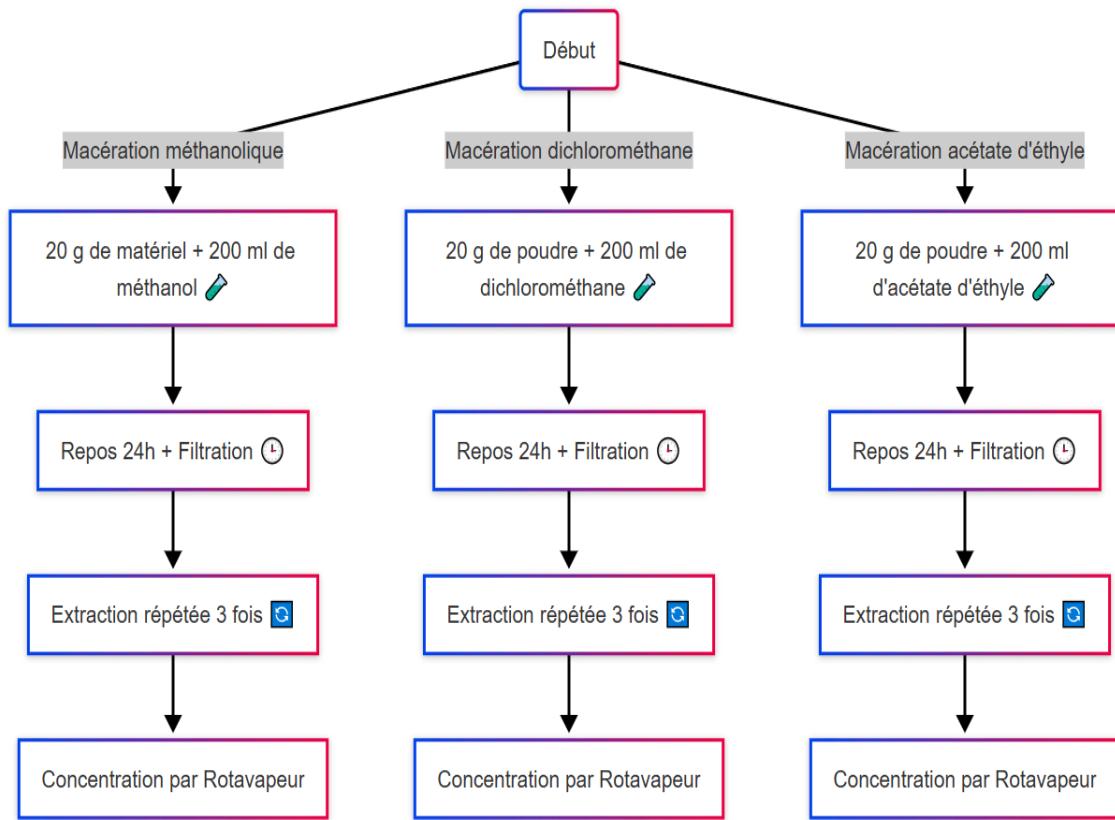


Figure 11. Protocole d'extraction.

II.2. Analyse qualitative

II.2.1. Criblage ou screening phytochimique

II.2.1.1. Détection des polyphénols

La mise en évidence des polyphénols repose sur leur réaction avec le chlorure ferrique (FeCl_3), une méthode couramment utilisée pour détecter rapidement leur présence dans les extraits de plantes (Yondo et al., 2009).

▪ Mode opératoire

Dans le cadre de cette étude, la détection des polyphénols a été réalisée selon le protocole suivant :

1. Introduire une quantité de filtrat (extrait méthanolique, extrait acétate éthyle et extrait dichlorométhane) dans trois tubes à essai distincts.
2. Ajouter quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3 à 10 %) dans chaque tube.

▪ Expression du résultat

L'apparition d'une coloration vert-noirâtre dans un ou plusieurs tubes indique la présence de polyphénols dans l'extrait correspondant.

II.2.2. Détection des flavonoïdes

La mise en évidence des flavonoïdes a été réalisée par la réaction à la cyanidine, une méthode qualitative basée sur la formation de complexes colorés en présence d'ions magnésium et d'acide chlorhydrique (Hamide El -Haoud et al., 2018).

▪ Mode opératoire

Le protocole expérimental adopté est le suivant :

1. Dans trois tubes à essai, ajouter successivement 2ml d'éthanol, 1ml d'acide chlorhydrique (HCl) et 2ml de chaque filtrat à analyser.
2. Introduire 2 à 3 fragments de magnésium métallique dans chaque tube

▪ Expression du résultat

Observer le dégagement de chaleur, suivi de l'apparition d'une coloration rose orangé ou violacée, indicatrice de la présence de flavonoïdes.

Ajouter quelques gouttes d'alcool iso amylique afin d'intensifier la coloration rose orangé, confirmant ainsi la présence de ces composés.

II.2.2.3. Détection des tanins

La mise en évidence des tanins a été réalisée par une réaction colorimétrique avec le chlorure ferrique (FeCl_3).

- **Mode opératoire**

1. Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml de chaque filtras, puis ajouter 0,5 ml d'eau distillée.
2. Ajouter 1 à 2 gouttes d'une solution de FeCl_3 diluée à 1 %.

- **Expression du résultat**

L'interprétation des résultats repose sur la formation d'une coloration spécifique :

- ✓ Une coloration vert foncé indique la présence de tanins catéchiques.
- ✓ Une coloration bleu-vert révèle la présence de tanins galliques (**Hamide El-Haoud et al., 2018**).

II.2.2.4. Détection des phénols

- **Mode opératoire**

Pour la mise en évidence des composés phénoliques, 2 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 1 ml de filtrat, suivis de l'ajout de quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 10 %.

- **Expression de résultat**

L'apparition d'une coloration bleue, verte ou noir traduit la présence de composés phénoliques dans l'échantillon analysé (**Shankar Mane et Chakraborty, 2018**).

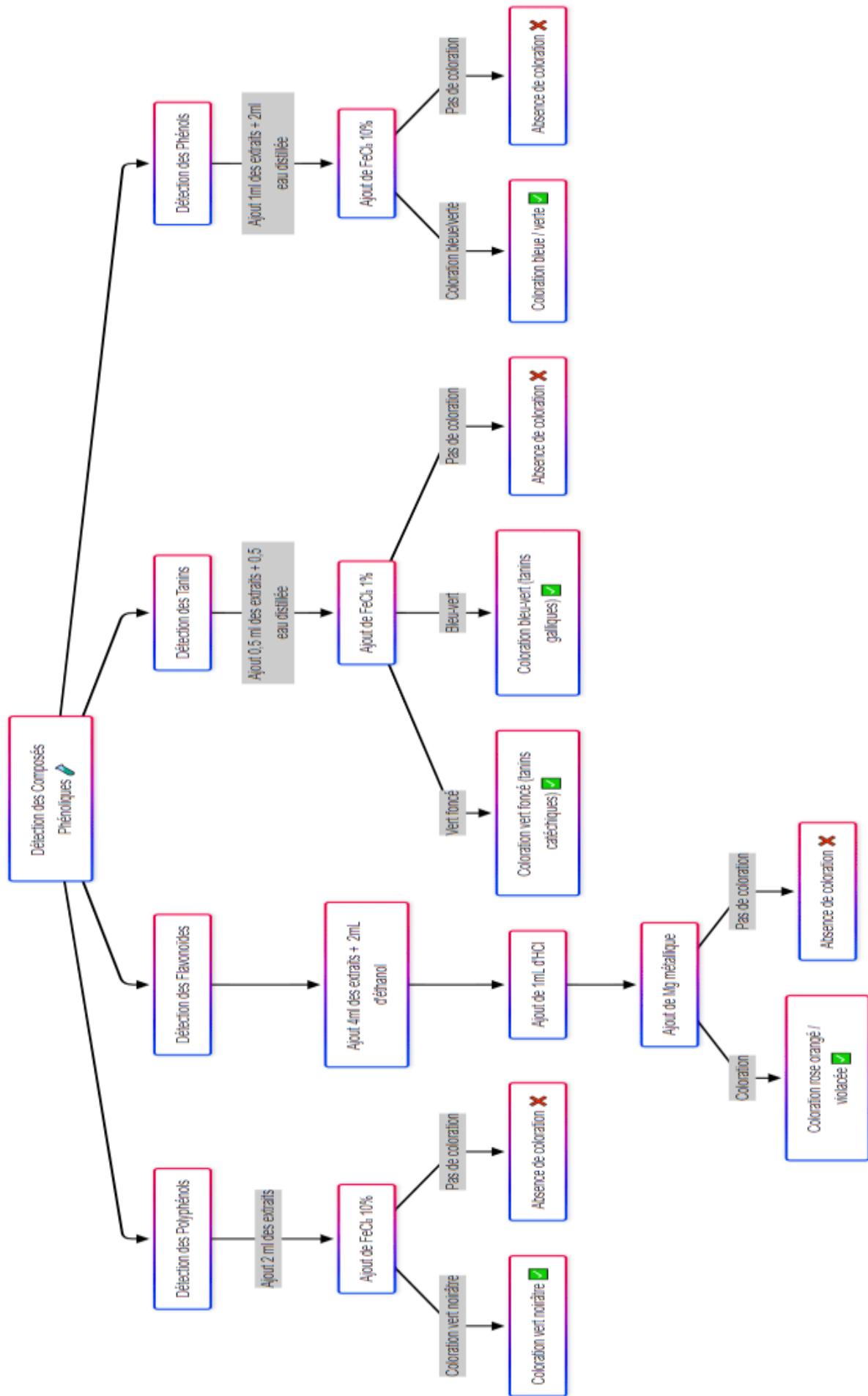


Figure 12. Schéma des tests de détection des polyphénols, flavonoïdes, tanins et phénols.

II.2.2.5. Détection des stérols et triterpènes

- **Mode opératoire**

Dans chaque échantillon filtré, on ajoute 1 ml d'anhydride acétique, suivi de quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Liebermann) (**Savithramma, 2011**).

- **Expression des résultats**

L'apparition d'un anneau rouge révèle la présence de triterpènes, tandis qu'une coloration verte indique la présence de stérols (**Savithramma, 2011**).

II.2.2.6. Détection des Coumarines

- **Mode opératoire**

On place 1ml de chaque filtrat dans un tube, puis on y ajoute 1 ml de NaOH (10%). Ensuite le mélange est agité. Pour préparer une solution de NaOH diluée à 10% (**Seladji et al., 2013**).

- **Expression des résultats**

Une couleur jaune brune se forme, signalant la présence de coumarine (**Seladji et al., 2013**).

II.2.2.7. Détection des quinones

- **Mode opératoire**

On mélange 2 ml de chaque filtrat avec quelques gouttes de NaOH (1/10) (**Najja et al., 2011**).

- **Expression des résultats**

L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette indique la présence des quinones libres (**Najja et al., 2011**).

II.2.2.8. Détection des alcaloïdes

- **Mode opératoire**

- ❖ **Test de dragendorff**

Pour chaque tube, on prend 1 ml de chaque filtrat et on y ajoute quelques gouttes du réactif de dragendorff (**Archana, 2012**).

- **Expression des résultats**

La présence des alcaloïdes est signalée par l'émergence d'un précipité de teinte rouge-orangé (**Archana, 2012**).

II.2.2.9. Détection des Glycoside cardiaque

- **Mode opératoire**

1 ml de chaque filtrat ont été mélangés avec 2 ml de chloroforme, puis quelques gouttes d'acide sulfurique concentré H₂SO₄ sont rajoutées (**Boukri Nour El Houda, 2014**).

- Expression des résultats**

L'apparition d'une coloration brune à l'interface de l'anneau indique la présence de glycoside cardiaque (**Boukri Nour El Houda, 2014**).

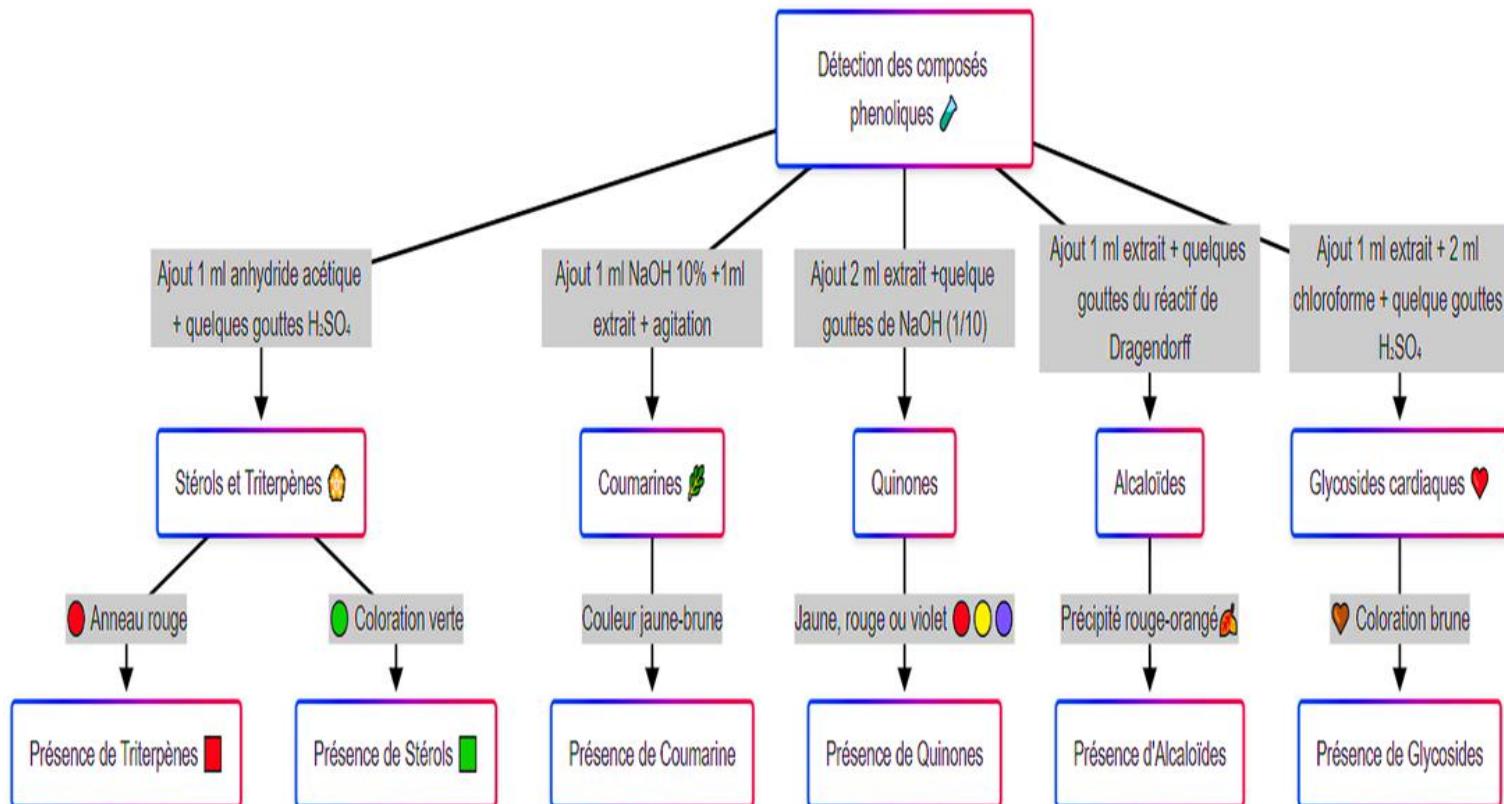


Figure 13. Schéma des tests de la détection des coumarines, des stérols et triterpènes, des coumarines, des quinones, des alcaloïdes et des glycosides cardiaques .

II.2.2.10. Détection Composés réducteurs

- Mode opératoire**

Mélangez 1 ml de filtrat avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis portez à ébullition, au bain-marie à une température de 40 à 60°C (**Trease et Evans, 1987**).

- Expression des résultats**

La formation d'un précipité rouge indique un résultat positif (**Trease et Evans, 1987**).

II.2.2.11. Détection des Anthocyanes

- Mode opératoire**

2ml du filtrat a été traité avec 2 ml de HCl 2N avant d'additionner 2 ml d'ammoniaque (**Savithramma et al., 2011**).

- Expression des résultats**

L'existence d'anthocyanes est confirmée par une teinte bleu-violet en milieu basique. (Savithramma et al., 2011).

II.2.2.12. Détection des Anthraquinones

- Mode opératoire**

10 ml de chaque filtrat sont ajoutés à 5 ml de NH₄OH à 10%. Après agitation pendant quelques minutes (Samejo et al., 2013).

- Expression des résultats**

L'apparition d'un anneau rouge ou une coloration violette indique la présence d'anthraquinones (Samejo et al., 2013).

II.2.2.13. Détection des leucoanthocyanes

- Mode opératoire**

On ajoute 5ml d'alcool chlorhydrique à chaque 1 ml de filtrat. On chauffe le tout au bain-marie à 50°C pendant 15min (Jean, 2009).

- Expression des résultats**

Une coloration rouge permet de conclure la présence leuco anthocyane (Jean, 2009).

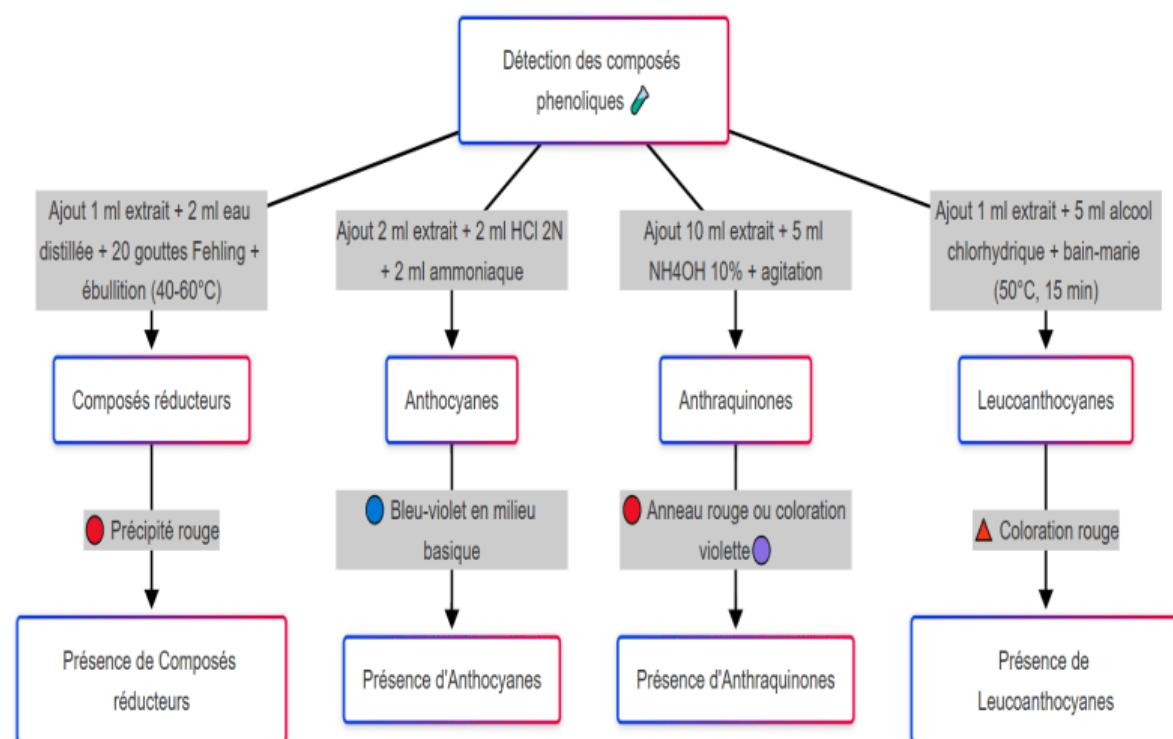


Figure 14. Schéma des tests de la détection des composés réducteurs, anthocyanes, Anthraquinones, et leuco anthocyane.

II.2.2.14. Détection des saponines

- **Mode opératoire**

Test des saponines leur présence est déterminer qualitativement par le test de la mousse, dans un tube à essai 2 mg de chaque filtrat est mis en contact avec 2 ml d'eau distillée, sous agitation vigoureuse.

- **Expression des résultats**

La formation d'une mousse stable persistant pendant 15 min, indique la présence des saponines (**Bruneton, 1993**).

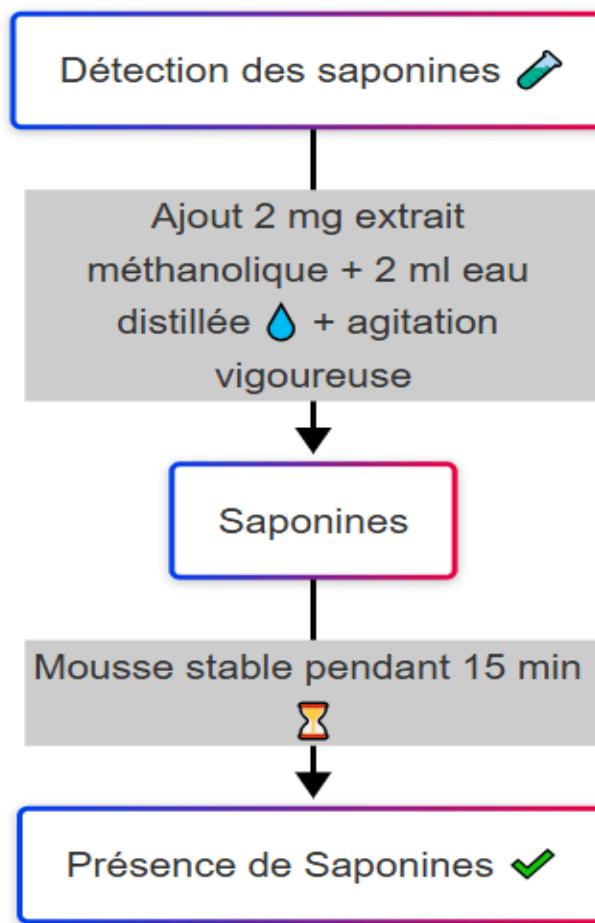


Figure 15. Schéma de test de la détection des saponines.

II.2.2. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

L'analyse en phytochimie utilise la chromatographie sur couche mince comme parmi les outils. C'est une technique facile et très rapide qui s'appuie principalement sur des processus d'adsorption (**Teusche, 2005**).

Cette méthode d'analyse est effectuée en utilisant divers solvants et différents adsorbants. Elle se repose sur l'usage d'un support (en aluminium, en verre ou en plastique) qui constitue la base d'une plaque CCM, sur laquelle est appliquée une mince couche d'un agent de désorption (silice, cellulose, alumine, polyamide...) qui sert de phase stationnaire. Elle est positionnée de manière légèrement inclinée dans un réservoir en verre hermétiquement clos qui renferme la phase mobile. Cette dernière est composée d'un ou de plusieurs solvants (**Levine, 1990**).

II.2.2.1. Principe

La chromatographie sur couche mince utilise l'adsorption et la polarité (**Abedini, 2013**). Le mélange est retenu sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice appliqué en mince couche sur une plaque d'aluminium). Un solvant approprié (phase mobile ou éluant) se déplace par capillarité sur la plaque. Le mélange se sépare grâce à la migration différentielle (**Atkins, 1998**).

II.2.2.2. Mode opératoire

▪ Préparation de la phase stationnaire

On a utilisé une plaque CCM découpée aux dimensions voulues (10 cm de hauteur), On trace au crayon un trait horizontal on trace au crayon un trait horizontal à une distance de 1 cm du bord inférieur et à 1 cm du bord supérieur.



Figure 16. Plaque CCM

- **Préparation de la phase mobile**

On a utilisé 2 systèmes d élution, pour procéder nous avons suivi les étapes suivantes :

- **Système d élution polaire**

Sous une hotte à flux laminaire, nous avons choisi le système solvant Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol (40/20/20) (v/v/v)

- **Système d élution apolaire**

Sous une hotte à flux laminaire, nous avons successivement préparé deux phases mobiles distinctes : la première selon un rapport volumique de (20/70/10) (v/v/v) (toluène/chloroforme/méthanol) et la seconde suivant un rapport de (40/20/20) (v/v/v) (chloroforme/acétate d'éthyle/méthanol) versé ensuite dans la cuve et agité pour homogénéiser le mélange.

Tableau 13. Systèmes solvants utilisés pour la CCM.

	<i>Eluant</i>	<i>Proportions</i>
<i>L'eluant choisi</i>	Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol	(40/20/20) (v/v/v)
	Toluène/ Chloroforme/Méthanol	(20/70/10) (v/v/v)

- **Développement des plaques**

La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile, qui a été recouverte afin de laisser les vapeurs se former et pour empêcher l'évaporation des solvants.

A l'aide d'une pipette pasteur, on dépose une goutte de chaque extrait (Dichlorométhane / méthanol / Acétate éthyle) sur le trait du bord inférieur. La plaque est alors introduite dans une cuve contenant le système d eluant.

Une fois le développement du chromatogramme est effectué ; la plaque est enlevée puis séchée à température ambiante.

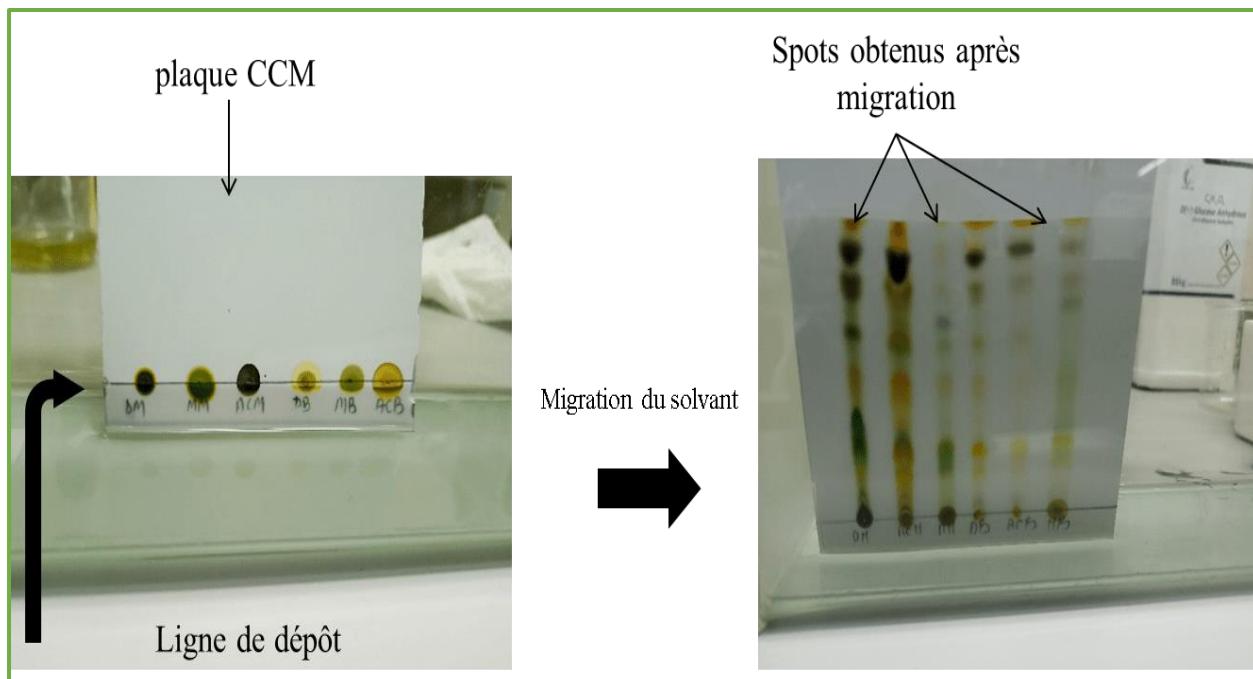


Figure 17. Migration des constituants de l'extrait lors de la CCM.

- **Révélation des plaques**

Après développement du chromatogramme, les taches sont observées sous lumière UV à une longueur d'onde de 254 nm ou 365 nm (**Merghem, 1995**).

Les spots qui apparaissent ont été encerclés et les rapports frontaux (Rf) ont été calculés, en utilisant la formule suivante :

$$RF = \frac{\text{Distance parcourue par le spot}}{\text{Distance parcourue par éluant}}$$

Distance parcourue par le spot : Distance de la ligne de dépôt jusqu'au centre du spot.

- **Révélation par Vanilline sulfurique**
- **Mise en évidence des triterpènes, des stérols et des lignans**

Préparation d'une solution de vanilline et d'acide sulfurique et pulvérisation des plaques suivie d'un chauffage jusqu'à ce qu'une couleur violette apparaisse dans le visible pour les terpènes), rougeâtre en visible et sous UV à 365 nm pour les lignanes, couleur bleu pour le stérol. (**Modifie**) (**Wagner et Bladt, 1996**).

Tableau 14. Métabolites révélés par vanilline sulfurique (Wagner et Bladt, 1996).

<i>Métabolites souhaités</i>	<i>Couleur attendue</i>	<i>Dans le visible/ Sous UV-365nm</i>
<i>Terpènes</i>	Violette	Visible
<i>Stérols</i>	Bleu	Visible
<i>Lignans</i>	Rougeâtre	Visible /UV 365

- Révélation par KOH
- La mise en évidence des quinones libres, anthrones et anthranols, coumarines et dérivés anthracéniques

Vaporisez les plaques avec une solution de KOH à 10%.

Tableau 15. Métabolites révélés par KOH (Wagner et Bladt, 1996).

<i>Métabolites souhaités</i>	<i>Couleur attendue</i>	<i>Dans le visible/ Sous UV-365nm</i>
<i>Quinones libres</i>	Rougeâtres	Visible
<i>Anthrones et anthranols</i>	Fluorescentes en jaune	Sous UV-365nm
<i>Coumarines</i>	Intensification de la couleur	Visible
<i>Dérivés anthracéniques</i>	Rouge/fluorescentes en rouge	Visible/ Sous UV-365nm

II.3. Analyse quantitative

L'identification des composés phénoliques : a été effectuée en utilisant un lecteur de microplaques à 96 puits de la marque Perkin Elmer (USA) avec son logiciel En Spire, dans le laboratoire de Biochimie du CRBt de Constantine.

II.3.1. Détermination du contenu total en polyphénols

- **Principe**

L'évaluation du contenu total en composés phénoliques des extraits a été effectuée grâce à la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode, qui s'appuie sur le transfert d'électrons des composés phénoliques vers le FCR dans un milieu alcalin, est à la fois simple et généralement utilisée (**Singleton et Rossi, 1965 ; Cai et al., 2004 ; Song et al., 2010**).

Ce composé de couleur jaune est une combinaison d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Quand les polyphénols subissent une oxydation, ils transforment le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe bleu formé d'oxyde de tungstène et de molybdène (**Boizot, 2006**)

Une augmentation, de l'absorbance signifie une augmentation de la quantité de polyphénols dans les extraits végétaux (**Macheix et al., 2005**).

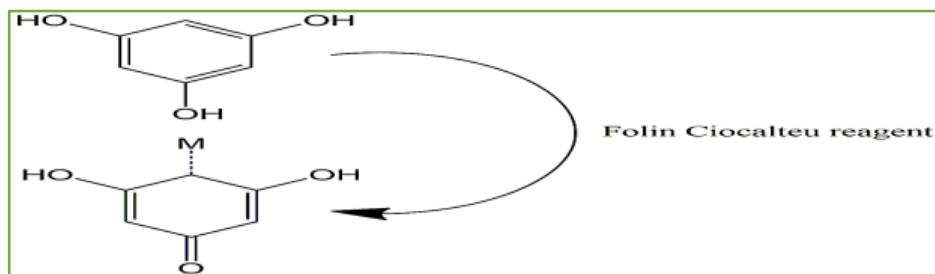


Figure 18. Réaction entre le Folin ciocalteu et les polyphénols (Diana Rakhmawaty Eddy,2022).

▪ Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**) selon la technique de quantification sur plaque à 96 puits décrite par **Muller et al., (2010)**.

On applique 20 µl de l'extrait végétal à 100 µl de FCR dilué (1 :10). Puis, on ajoute un volume de 80 µl de carbonate de sodium à 7,5%. Le mélange est gardé dans l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante. On détermine l'absorbance de diverses intensités de la couleur bleue résultante à 765 nm.

Un blanc est préparé de la même manière en substituant l'extrait par le solvant utilisé (méthanol). L'acide gallique est utilisé comme contrôle positif, à partir duquel une courbe d'étalonnage a été établie.

II.3.2. Détermination de la teneur des flavonoïdes

▪ Principe

L'évaluation en flavanols des extraits a été effectuée grâce à la méthodes colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

Les flavonoïdes ont un groupe hydroxyle (-OH) libre en position 5, qui peut se combiner avec son groupe -CO et le chlorure d'aluminium pour former un complexe coloré. L'apparition de la couleur jaune signale la création de ce complexe (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

La figure 19 représente la formule du complexe formé entre le chlorure d'aluminium et le composé phénolique.

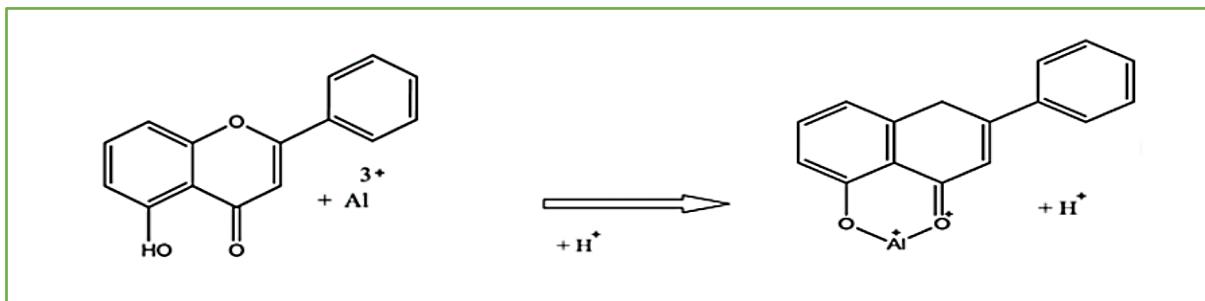


Figure 19. Réaction entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes.

▪ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la méthode colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (**Kumaran and joel Kumaran, 2007**).

Un volume de 50 μl de l'extrait est mélangé avec 50 μl de trichlorure d'aluminium et 150 μl d'acétate de sodium. Le mélange est mis à l'obscurité pendant 2 heures et demi, puis une lecture de l'absorbance est réalisée à 440 nm.

Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par méthanol (50 μl extrait +200 μl méthanol). La quercétine est utilisée comme contrôle positif, à partir de laquelle une courbe d'étalonnage a été établie.

II.4. Evaluation des activités biologiques

II.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante de *la spiruline* a été réalisée par plusieurs méthodes : comme le : piégeage du radical libre DPPH \bullet , le test FRAP (Pouvoir Antioxydant Réducteur Ferrique) ou encore le test ABTS qui consiste à piéger des radicaux.

a. Activité antiradicalaire au DPPH

▪ Principe

L'activité anti-radicalaire libre est évaluée par spectrophotométrie en quantifiant le DPPH \bullet , selon la méthode de **Blois (1958)**. Le composé DPPH \bullet , qui signifie de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, est un solide noir-violet (**Mbaebie et al., 2012**). Selon **Parejo et al. (2002)**, la présence de composés anti-radicalaires provoque la réduction du radical DPPH \bullet qui passe à une couleur jaune.

Le test DPPH \bullet se base sur l'aptitude des extraits à donner des atomes d'hydrogène au radical libre DPPH \bullet , provoquant ainsi sa réduction. On peut contrôler la réduction du radical DPPH \bullet en utilisant un spectrophotomètre pour mesurer la diminution de l'absorbance à une longueur d'onde déterminée. Cette réduction de l'absorption indique de la capacité des extraits

empêcher ou à identifier le radical libre DPPH[•] (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

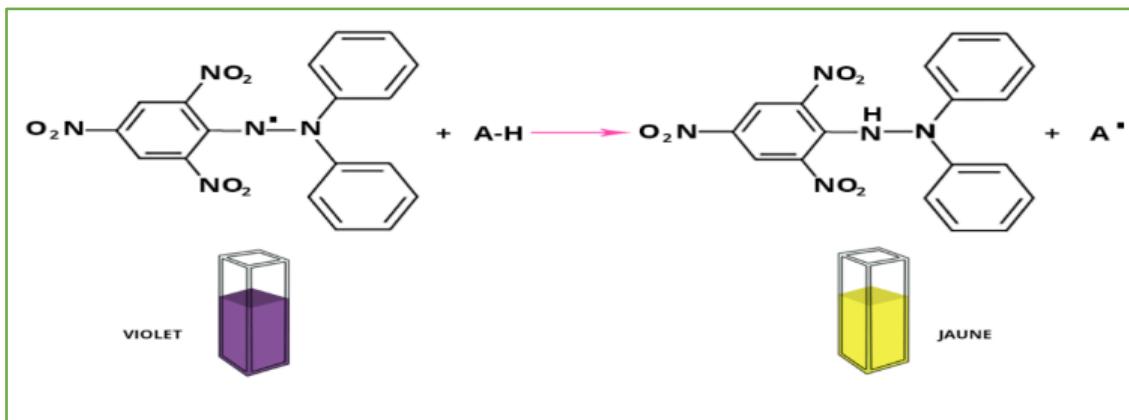


Figure 20. Réaction chimique DPPH (Amine Ouaket, 2022).

▪ Mode opératoire

Sur une microplaquette de 96 puits, on ajoute à une solution de 160 µl de DPPH[•], 40 µl de solution d'extraits préparé à plusieurs concentrations. La conservation du mélange a été faite à une température ambiante pendant 30 minutes à l'obscurité.

- La lecture de l'absorbance de l'échantillon et du blanc a été réalisée à 517 nm.
- L'activité antiradicalaire au DPPH[•] a été exprimée en termes d' IC_{50} (50%) en utilisant le BHA et le BHT comme standards.

✓ Calculer le taux d'inhibition de I% pour la racine libre de DPPH

Les pourcentages d'inhibition de DPPH des échantillons étaient calculés :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

Où

- ✓ $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle négatif
- ✓ A_{extrait} est l'absorbance de l'extrait/standard.

b. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

▪ Principe

La méthode ABTS^{•+} est une technique spectrophotométrique permettant d'évaluer la capacité d'un antioxydant à récupérer un cation du radical libre ABTS^{•+}, Miller et al., (1993) ont développé cette technique, qui a ensuite été modifiée par Re et al. (1999).

Ce test repose sur l'aptitude d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique

ABTS^{•+} (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'-azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de teinte bleu verdâtre (**Ghnimi, 2015**).

Cette technique repose sur l'évaluation de la consommation du radical ABTS^{•+} après l'introduction d'un échantillon antioxydant. Ce composé interagit avec l'ABTS^{•+} (en excès) par transfert d'électrons, permettant de régénérer l'ABTS^{•+} incolore (**Roginsky et Lissi, 2005**).

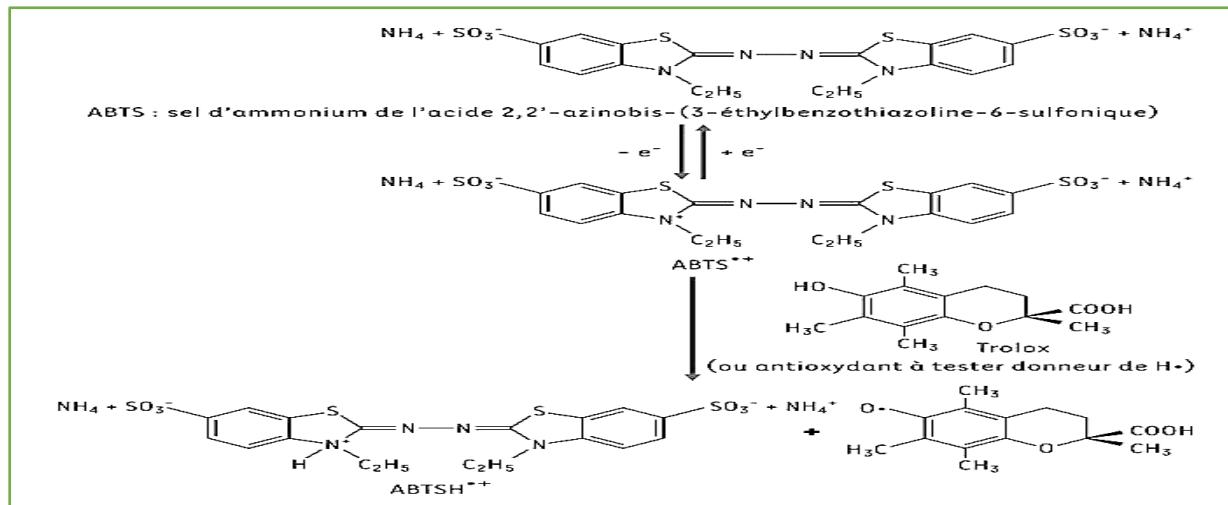


Figure 21. Formation et piégeage du radical ABTS^{•+} par un antioxydant donneur de H[•] (**Boubekri, 2014**).

■ Mode opératoire

A partir de l'ABTS^{•+} et du persulfate de potassium K2S2O8 : les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12-16h, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (éthanol ou H₂O) à 734 nm avant usage.

Une solution de 160 µl d'ABTS^{•+} (7 mM) a été mélangée avec 40 µl de l'extrait dilué dans du méthanol à diverses concentrations. Il a été gardé dans l'obscurité et à température ambiante pendant 10 minutes.

- La lecture de l'absorbance de l'échantillon et du blanc a été réalisée à 734 nm.
- Activité de piégeage du cation radical ABTS^{•+} a été exprimée en termes d'IC₅₀ (50%) en utilisant le BHA et le BHT comme standards.
- Le pourcentage d'inhibition d'ABTS a été calculé selon l'équation suivante

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}}}{A_{\text{extrait}}} \right] \times 100$$

✓ A_{contrôle} est l'absorbance du contrôle négatif.

✓ A_{extrait} est l'absorbance de l'extrait/standard.

C. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

- **Principe**

L'activité reducing power est déterminée par la méthode de **Oyaizu (1986)** avec une légère modification.

Le pouvoir réducteur d'une molécule est relatif à sa capacité de transfert des électrons qui peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante (**ZovkoKončić et al., 2010**). Cette méthode, qui s'appuie sur la conversion du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}), est décrite par **Hubert (2006)**. Ce phénomène de réduction se traduit par une transition de couleur, passant du jaune associé au fer ferrique (Fe^{3+}) au bleu-vert lié au fer ferreux (Fe^{2+}) (Jayaprakash et al., 2001). Une absorbance élevée à 700 nm témoigne d'un fort pouvoir réducteur (**ZovkoKončić et al., 2010**).

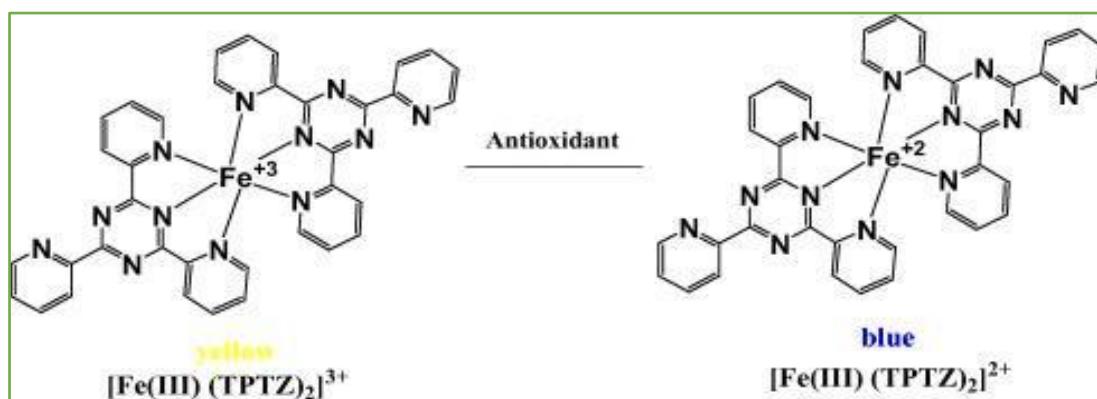


Figure 22. Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe Tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH) (**Prior et al., 2005**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 10 µl de l'extrait à diverses concentrations est mélangé avec 40 µl d'une solution tampon phosphate (pH 6,6) et 50 µl d'une solution de ferricyanide de potassium (1%). Le mélange est ensuite incubé dans une étuve à une température de 50°C pendant 20 minutes. Par la suite, on ajoute 50 µl d'acide trichloracétique (10%) pour interrompre la réaction. Enfin, on incorpore un volume de 40 µl d'eau distillée ainsi que 10 µl d'une solution de chlorure de fer anhydre (0,1%).

- L'activité du pouvoir réducteur (FRAP) a été exprimée en équivalents de deux solutions d'antioxydants standards, l'acide ascorbique et l' α -tocophérol (400%).
- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm.

II.4.2. Evaluation de l'activité antidiabétique

On a évalué l'activité antidiabétique par la méthode d'inhibition de l'enzyme l'alpha-amylase décrite par **Zengin et al., (2014)** avec quelques modifications.

- **Principe**

Lorsque l'enzyme α -amylase est en action dans le milieu réactionnel, elle hydrolyse l'amidon (qui représente son substrat) pour libérer des unités de maltose et de glucose. C'est une méthode colorimétrique utilisant une solution d'iode pour estimer le volume d'amidon hydrolysé (**Yang et al., 2012**).

- **Mode opératoire**

Nous avons préparé dans une microplaqué à 96 puits des mélanges d' α -amylase (50 μ l) (1U) avec des solutions d'extrait de diverses concentrations (25 μ l), puis nous les avons incubés pendant 10 minutes à 37°C. La réaction a ensuite été lancée en introduisant une solution d'amidon (50 μ L, 0,1%). Les mélanges réactionnels ont été de nouveau incubés pendant une durée de 10 minutes à une température de 37°C. On a ensuite interrompu la réaction en ajoutant 25 μ l d'acide chlorhydrique (HCl, 1 M), suivi de 100 μ l d'iodure de potassium (KI).

Préparations des blancs à base de solutions d'extrait à diverses concentrations ont également été élaborés (un blanc se compose d'une solution d'extrait d'une certaine concentration, d'amidon, d'acide chlorhydrique et d'iodure de potassium).

- La lecture de l'absorbance de l'échantillon et du blanc a été réalisée à 630 nm.
- L'activité inhibitrice de α -amylase a été exprimée en équivalents d'acarbose (400%).
- Le pourcentage d'inhibition de α -amylase a été calculé avec la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = 1 - \left[\frac{(Ac - Ae) - (As - Ab)}{(Ac - Ae)} \right] \times 100$$

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
B	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
C	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
D	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
E	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
F	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
G	As ₁	As ₁	As ₁	A _{b1}	As ₂	As ₂	As ₂	A _{b2}	As	As	As	A _b
H	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ae	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac	Ac

Figure 23. Récapitulatif des différentes solutions préparées.

- ✓ Ac=Absorbance [Amidon + KI + HCl + solvant d'extrait + tampon Enzyme]
- ✓ Ae=Absorbance [Enzyme + Amidon + KI + HCl + solvant d'extrait]
- ✓ As=Absorbance [Enzyme + Extrait + Amidon + KI + HCl]
- ✓ Ab=Absorbance [Extrait + KI + tampon]

II.4.3. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire in-vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

▪ Principe

L'une des causes bien établies de l'inflammation, conduisant à diverses maladies inflammatoires, est la dénaturation des protéines. Ainsi, la capacité d'une substance à prévenir la dénaturation des protéines indique un potentiel manifeste d'action anti-inflammatoire (**Habibur et al., 2015 ; Osman et al., 2016**).

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été évaluée selon la méthode décrite par **Kandikattu et al. (2013)**, avec quelques modifications. Cette méthode repose sur l'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA) à 72°C par les extraits étudiés.

▪ Mode opératoire

Pour chaque concentration d'extrait ou de standard, 1 ml est mélangé à 1 ml de la solution de BSA à 0,2 %. Le mélange est incubé à 37°C pendant 15 minutes, puis chauffé à 72°C au bain-marie pendant 5 minutes.

- Après refroidissement, la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide du spectrophotomètre.
- L'activité inhibitrice de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été exprimée en équivalents de Diclofénac (500 ppm).
- Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la dénaturation (\%)} = \frac{Ac - Ae}{Ac} \times 100$$

- ✓ Ac absorbance de control
- ✓ Ae absorbance des extraits

II.4.4. Evaluation d'Activité antibactérienne

a. Souche bactériennes utilisées

Les souches bactériennes sont : *Escherichia coli* NCTC10538, *Bacillus subtilis* subesp spizizenii ATCC6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

b. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

❖ Stérilisation du matériel

L'ensemble du matériel requis pour l'activité bactérienne, notamment les disques en papier Wattman, les embouts jaunes et bleus, les tubes Eppendorf ainsi que les tubes à essai, est stérilisé par autoclave à 121 °C pendant 60 minutes.

▪ Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture est préparé en chauffant la gélose Mueller-Hinton au bain-marie à 95 °C jusqu'à dissolution complète. Une fois homogène, le milieu est versé dans des boîtes de Petri stériles, puis laissé à température ambiante afin de permettre sa solidification.



Figure 24. Préparation des boîtes de Pétri.

- **Préparation des extraits et des séries de dilutions**

Une série de dilutions est préparée à partir d'une solution mère d'extrait dans le DMSO, avec une concentration initiale de 100 mg/ml. Des dilutions successives sont ensuite réalisées jusqu'à une dilution de 1/64. Toutes les solutions obtenues sont ensuite stérilisées par filtration à l'aide de micro filtres de 0,22 µm.

- **Préparation et standardisation de l'inoculum**

Les trois souches bactériennes sont cultivées dans du bouillon nutritif et incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'inoculum est ensuite préparé à partir de cette suspension, en le diluant dans de l'eau physiologique stérile jusqu'à obtention d'une densité cellulaire équivalente au standard 0,5 de McFarland.

- **ensemencement et dépôt des disques**

Les suspensions bactériennes sont ensemencées en surface de la gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile. Une fois la surface bien recouverte, des disques préalablement imbibés de différentes concentrations d'extraits, ainsi que des disques contenant uniquement du DMSO (contrôle négatif), sont délicatement déposés à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de Petri sont ensuite placées au réfrigérateur (4 °C) pendant 30 minutes pour permettre une diffusion optimale des substances. Chaque test est répété trois fois pour chaque extrait et chaque souche bactérienne afin d'assurer la fiabilité des résultats.

- **Incubation et lecture**

Enfin, les boîtes de Petri sont incubées à 37 °C pendant une durée de 24 à 48 heures. À l'issue de cette incubation, les zones d'inhibition de la croissance bactérienne formées autour des disques sont mesurées à l'aide d'une règle millimétrée, conformément à la méthode décrite par **Biondi et al., (1993)**.

c. Antibiogramme

Les antibiotiques testés dans cette étude sont : la clindamycine (2 µg), la fosfomycine trométamol (200 µg), la pénicilline (6 µg), l'ofloxacine (5 µg), la céfotaxime (30 µg) et la spiramycine (100 µg). Chaque antibiotique a été testé en double, en tenant compte de la sensibilité propre à chaque souche bactérienne.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

I. Rendements des extraits

L'évaluation du rendement de l'extrait est une étape cruciale pour déterminer la quantité et le taux d'extrait récupéré lors d'une extraction effectuée par macération.

Une méthode qui fait utiliser des solvants de différente polarité ; acétate éthyle, dichlorométhane et méthanol, Le rendement calculé pour chaque extrait est représenté dans la figure 25.

Le poids ou la masse de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

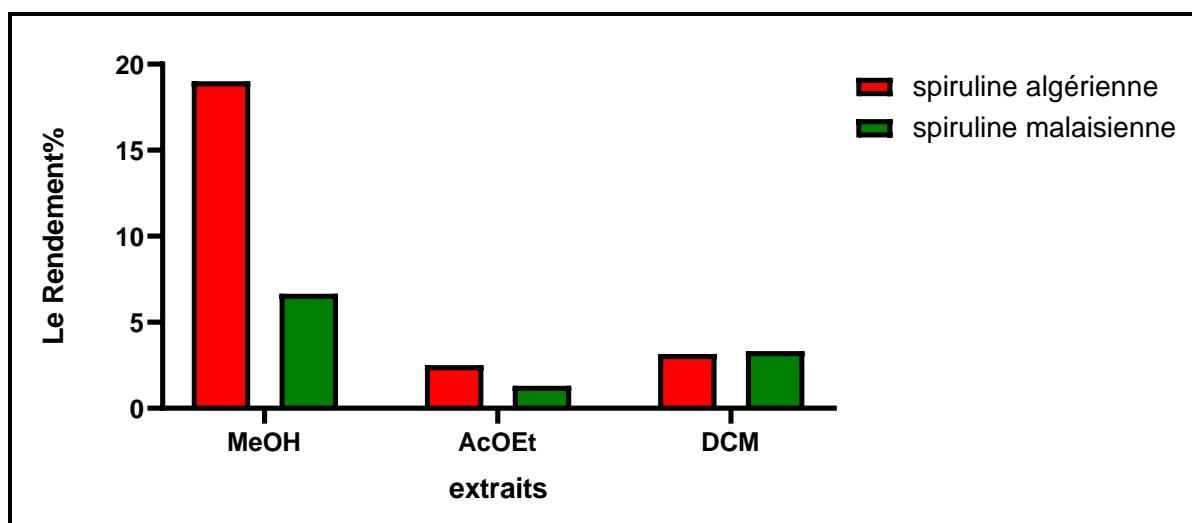


Figure 25. Représentation graphique des rendements d'extraction en (%) des extraits de la *Spiruline* de deux régions.

▪ Description

Les résultats obtenus montrent les rendements d'extraction de la *Spiruline* qui varient significativement selon l'origine de biomasse et le solvant utilisé. Une variabilité des rendements entre les trois extraits malaisiens : l'extrait méthanolique représentant le rendement le plus élevé 6,66 %. Suivi de l'extrait dichlorométhane 3,33%. Puis l'extrait acétate éthyle qui possède le rendement le plus faible 1,3% avec une coloration vert foncé.

En revanche, pour la *Spiruline* algérienne. Le rendement est légèrement inférieur avec 3,15% pour l'extrait dichlorométhane mais nettement supérieur pour l'extrait méthanol (19%) et acétate éthyle (2,5%). Ces résultats suggèrent des différences biochimiques marquées entre les deux souches influencées par leur origine, leur composition et leur métabolisme.

▪ Discussion

Les solvants utilisés présentent des polarités différentes. Ce qui affecte leur capacité à extraire des composés spécifiques :

En ce qui concerne le dichlorométhane un solvant apolaire qui extrait principalement des lipides de la chlorophylle et des caroténoïdes. On observe un rendement comparable pour les deux souches Xm et Xb (3,3 - 3,5%) respectivement indiquant une concentration similaire en composés lipophiles. L'extrait malaisien avec sa couleur vert foncé pourrait indiquer une concentration supérieure en chlorophylle. Tandis que la couleur vert clair de l'extrait algérien pourrait être le signe d'une présence plus importante de phycocyanine (bleu-vert).

Le méthanol un solvant polaire est utilisé plutôt pour l'extraction des composés hydrosolubles tels que la phycobiliprotéine (phycocyanine) (**Pawel et al., 2008**). Le rendement de 19% observé pour la *Spiruline* algérienne indique une concentration élevée en métabolites polaires, probablement des protéines ou des pigments hydrosolubles. Alors qu'un faible rendement pour la *Spiruline* malaisienne à 6,66% pourrait être associé à des conditions de culture spécifiques.

Pour le solvant acétate d'éthyle à polarité intermédiaire, qui permet l'extraction des composés modérément polaires comme les flavonoïdes, nous avons observé un faible rendement 1,3%-2,5% pour Xm et Xb respectivement.

Il est généralement observé que le rendement d'extraction par le méthanol est toujours le plus élevé ce qui peut être attribué à la forte polarité du méthanol qui lui permet d'extraire une large gamme de molécules, y compris une proportion significative de composés non phénoliques tels que les glucides et les protéines (**Bonnaillie et al., 2012**).

Les conditions de culture (pH, lumière, nutriment) et les méthodes de séchage influencent la composition de la *Spiruline*.

On conclusion la *Spiruline* algérienne est globalement plus performante grâce à son rendement exceptionnel en méthanol (19%).

D'une manière générale, l'efficacité de la méthode d'extraction est influencée par divers facteurs, notamment la durée d'extraction, la température, le lieu géographique, le moment de la récolte, les conditions géologiques et la durée de conservation (**SU et al., 2006**). Il est également dépendant de la nature du solvant appliqué (**Zhao et al., 2006**) ainsi que de la Technique d'extraction mise en œuvre (**Wojdylo et al., 2007**).

II. Screening phytochimique

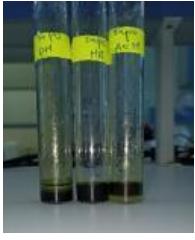
Cette analyse phytochimique réalisée sur trois extraits (MeOH, AcOEt et CH₂Cl₂) a montré une grande diversité de familles de métabolites secondaires.

Les résultats obtenus sont représentés dans le (Tableau 16).

Tableau 16. Résultats de la screening phytochimique de la *Spiruline* provenant de deux régions.

Culture	Xm				Xb				
	Extrait	Méthanol	Dichlorométhane	Acétate d'éthyle	Couleur	Méthanol	Dichlorométhane	Acétate d'éthyle	Couleur
<i>Polyphénol</i>	+++	+++	+++	+++		++	++	-	
<i>Flavonoïde</i>	++	+++	+++	+++		+++	+++	++	
<i>Tanins</i>	++	+++	+++	+++		+++	+++	-	
<i>Terpène et stérol</i>	+++	+++	+++	+++		+++	++	+++	

<i>Acide phénol</i>	+++	+++	+++		+++	+++	+++	
<i>Coumarine</i>	-	++	-		-	-	+++	
<i>Quinone</i>	-	-	-		-	+	-	
<i>Alcaloïde</i>	-	+++	-		+++	-	+++	
<i>Anthra Quinone</i>	-	+++	+++		-	+++	-	

<i>Antho Cyanes</i>	-	-	-		-	-	-	
<i>Leuco anthocyanes</i>	-	-	-		-	-	-	
<i>Compose réducteur</i>	-	-	-		+	+++	++	
<i>Saponoside</i>	-	-	-		-	-	-	
<i>Glycoside cardiaque</i>	+++	+	-		+++	+	-	

✓ +++ : Fortement positif.

✓ ++ : Moyennement positif.

✓ + : faiblement positif.

✓ _ : négatif.

■ Description des résultats

Screening phytochimique a révélé la présence de certains métabolites secondaires dans la *Spiruline* des deux régions malaisienne et algérienne. L'identification de ces composés chimiques repose sur des réactions de précipitation et une variation de couleur.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 16. Nous avons révélé la présence des flavonoïdes, des terpènes et stérols et des acides phénoliques dans les trois extraits des deux régions par une forte présence. Tandis que les tanins et polyphénols ont montré une absence uniquement dans L'extrait acétate d'éthyle algérien. Cependant, nous avons enregistré la présence de quinones uniquement dans l'extrait dichlorométhane algérien, la présence des glycosides cardiaque uniquement dans l'extrait méthanolique de la *Spiruline* de deux régions. Nous avons révélé aussi la présence des coumarines, alcaloïdes, anthraquinone avec une moyenne présence. Une absence totale des anthocyanes, leuco anthocyanes, saponosides, Tandis que la présence de composés réducteurs juste dans la *Spiruline* algérienne.

■ Discussion des résultats

L'étude complète des résultats du screening de l'espèce étudiée met en évidence la présence des composés chimiques qui possèdent des activités biologiques intéressantes.

■ Flavonoïdes

Dont leur présence flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'un couleur orangé ce qui signifie la forte présence dans tous les extraits de Xb et Xm. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Kambou et al., 2018**) qui indique une présence des flavonoïdes dans la *Spiruline* Originaire de Côte d'Ivoire, et contredisant les travaux de (**Dinechkumzr, 2021**) qui indique une absence des flavonoïdes dans l'extrait AcOEt dans la *Spiruline* Originaire d'Inde.

Ces composés jouent des rôles très importants : antibactériennes, antivirales, Antiplaquettaires, antiallergiques, Antiinflammatoires, antitumorales et leur activité antioxydante sont étudiées pour atteindre des objectifs thérapeutiques dans le traitement de certains cancers, maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (**Garrett et al., 2009**).

On peut ainsi dire que la *Spiruline* est enrichie de flavonoïdes qui ont un rôle essentiel dans la sauvegarde des aliments végétaux face à l'oxydation. Ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti-radicalaire (**Makhloufi, 2010**).

■ Acides phénoliques

Leur présence acide phénolique confirmée par l'apparition d'un couleur vert ; noir dans tous les extraits de Xb et Xm. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Mane et**

Chakraborty, (2018) qui indique une présence des flavonoïdes dans la *Spiruline*. Cependant ces résultats contredisent les travaux de (**Kwei, 2012**).

Les composés phénoliques sont fréquemment utilisés en phytothérapie et trouvent également une large application dans le domaine agroalimentaire (**Hannebelle, 2004**). Ils constituent des postulants parfaits pour la prévention ou la diminution des risques liés aux cancers, aux pathologies neurodégénératives et cardiovasculaires (**Ryan et Robard, 1998 ; Hennebelle ,2004**).

▪ Terpénoïdes

Le virage d'un anneau rouge dans MeOH des deux régions ce qui signifie la forte existence des terpènes. Tandis que la présence de la coloration verts dans les deux extraits CH₂Cl₂ et AcOEt de Xb et Xm indique la présence du stérol, qui sont considéré par leurs activité. Nos résultats sont contredisant avec les travaux de (**Kambou, 2018**) qui indique une absence des terpénoïdes dans la *Spiruline* Originale de Côte d'Ivoire.

Les triterpènes présentent une variété d'activités biologiques, reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, antimycotiques, virostatiques, hémolytiques, cytostatiques immunomodulateurs et hépato-protectrices (**Muffler et al., 2011**), Toutefois, il est à noter que l'activité biologique la plus significative des triterpènes est leur capacité anti-inflammatoire non-stéroïdienne (**Grigoraş, 2012**).

▪ Tannins

Nous remarquons la transformation de la solution en couleur vert foncé dans les extraits de la *Spiruline* malaisienne et l'extrait MeOH de la *spiruline* algérienne, indiquant la présence de tanins catéchique. Tandis que la présence de la couleur bleu verts indique la présence des tanins galliques dans les extraits de la souche algérienne.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Mane et Chakraborty, (2018)** et en même pour les travaux de **Dineshkumar et al., (2021)**, qui rapportent la présence de tanins dans la *Spiruline* originaire d'Inde. Et contredisant les travaux de **Kambou, (2018)** qui indique une absence de Tanins dans la *spiruline* Originale de Côte d'Ivoire.

Les tannins connus pour leurs effets antioxydants, antiseptiques (antibactériens, antifongiques, antiviraux), leur rôle dans la prévention des affections cardiovasculaires et leur capacité à se lier aux enzymes et à les inhiber (**Lecasble, 2012**). Ces derniers permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections (**Iserin, 2001**).

▪ Polyphe nols

La transformation de la couleur en vert noirâtre, indique que la *Spiruline* est riche en polyphénols. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Kambou, 2018**) qui ont indiqué une présence notable des polyphénols dans la *Spiruline* Originale de Côte d'Ivoire.

Ces substances présentent des propriétés anti-cancéreuses, anti-inflammatoires, Antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales et anticancéreuses (**Babar et al., 2007**). Elles possèdent également des effets anti-allergènes, vasodilatateurs (**Falleh et al., 2008**) et antioxydants (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

Selon **Martin et Andriantsitohaina, (2002)** Plusieurs molécules polyphénoliques sont aussi en phase d'essai clinique, comme des agents anti-agrégants plaquettaires ou hypotenseurs, mais sans résultats concluants.

▪ Coumarines

La coloration brun-jaune observée dans les extraits DM et ACB de la *Spiruline* indique la présence des coumarines. En effet, **Kambou, (2018)** a indiqué une absence totale des coumarines dans la *Spiruline* Originale de Côte d'Ivoire.

Ces composés se révèlent comme des composés immunostimulants qui entraînent une hausse des lymphocytes T dans le flux sanguin (**Stefano va et al., 2007**).

Ces molécules ont la capacité d'empêcher la peroxydation des lipides membranaires et de neutraliser les radicaux hydroxyles, superoxyde et pyroxydes (**Anderson et al., 1996 ; Hu et al., 2005**).

▪ Alcaloïdes

Comme l'indique le tableau 16, l'extrait DM ainsi que les extraits MB et AB contiennent des alcaloïdes, ce que confirme par l'apparition d'un précipité rouge brun après l'ajout de réactifs dragendorff. Nos résultats sont en accord avec les études de (**Kannan et al., 2014**) et avec les travaux de (**Mane et Chakraborty, 2018**), contredisant ainsi les résultats de **Rohit et al., (2019)** qui montre la présence des alcaloïdes dans l'extrait aqueux et leur absence dans les extraits MeOH et AcOEt de la *Spiruline* Originale de Inde.

Selon **N'Guessan et al. (2009)**, les alcaloïdes sont connus pour leurs effets antispasmodique, antirhumatismal, analgésique et anticancéreux, Leur effet laxatif est aussi révélé.

Ces substances jouent un rôle clé en pharmacologie, avec diverses applications thérapeutiques, notamment comme agents antitumoraux (ex : taxol) et vasodilatateurs (ex : vincamine) (**Kone, 2009**), Comme des stimulants (caféine, Strychnine,), anticholinergiques (atropine) (**Kanoun, 2010**).

▪ Composés réducteurs

La présence des composés réducteurs a été confirmée par l'apparition d'un précipité brun, observée uniquement dans les extraits de Xb après l'ajout de la liqueur de Fehling. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Kambou, 2018**) qui indique une présence sensible des composés réducteurs dans la *Spiruline* originaire côte d'ivoire. Cependant, nous contredisent les travaux de **Dineshkumar et al., (2021)**, qui n'ont pas détecté de tels composés dans l'extrait AcOEt de la *Spiruline* provenant d'Inde.

Ces composés représentent une place centrale dans le métabolisme de *Spirulina platensis*, en particulier en tant que produits de photosynthèse (NADPH) générés lors des réactions lumineuses (**Berg et al., 2018**) et la détoxification (**Pawlik-Skowronska, 2003**).

▪ Quinones

Nous avons révélé une coloration jaune qui confirme la présence des quinones pour la première fois et uniquement dans l'extrait dichlorométhane de Xb. Nos résultats en accord avec les travaux de **simes et al., (2019)** qui a identifié la présence des quinones (Vitamine K1) dans la *Spiruline*.

Dans *Spirulina platensis*, les quinones ont une fonction biologique en participant essentiellement à la photosynthèse où elles favorisent le passage des électrons entre les complexes protéiques (**Nelson, 2004**). Elles sont également impliquées dans la respiration cellulaire. La *Spiruline* contient des méquinones (vitamine K2) qui jouent le rôle de cofacteurs (**Nowicka, 2016**).

▪ Anthraquinones

Le tableau 16 montre que les extraits DM, ACM, ainsi que DB, contiennent des anthraquinones, ce qui est confirmé par l'apparition de phases rougeâtres à violacées, indiquant leur présence. Nos résultats sont en accord avec l'étude de (**Karkos et al., 2011**) qui a été menée sur *Spiruline*. Utilisation clinique, a noté la présence possible de dérivés anthraquinones qu'ils ne soient pas majoritaires et contredisant l'étude de **Rohit et al., (2019)** qui a observé la présence des anthraquinones uniquement dans l'extrait aqueux originaire d'Inde.

Selon (**Malik et Müller, 2016**), les anthraquinones sont connues par de nombreuses activités pharmacologiques, telles que : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse.

Dans le domaine de la thérapie, ils traitent les affections de l'intestin grêle. Les dérivés naturels de l'anthraquinone exercent une action laxative, On les identifie comme un pesticide naturel (**Buchanan, 2015**).

- **Glycosides cardiaques**

La présence des glycosides cardiaque confirmée par l'apparition d'une coloration brune à l'interface de l'anneau seulement dans l'extrait MeOH algérien et malaisien. Nos résultats contredisent avec les travaux de (**Kambou, 2018**) qui a indiqué l'absence des glycosides cardiaques dans les extraits de la *Spiruline* originaire côte d'ivoire. Néanmoins, des résultats similaires aux nôtres ont été mentionnés dans l'étude de **Rohit et al., (2019)** qui ont confirmé la présence de glycoside cardiaque dans l'extrait MeOH de la *Spiruline* originaire Inde.

Selon **Diederich, (2016)**. Ces substances jouent un rôle clé en pharmacologie. On utilise les glycosides cardiaques pour traiter les affections cardiaques, et ils sont perçus comme des inhibiteurs de la pompe sodium-potassium-ATPase, On a récemment démontré que ces composés ont aussi un effet anticancéreux.

- **Saponosides**

Nous remarquons une absence totale de la mousse après agitation dans tous les extrait de la souche des deux régions indiquant que la *Spiruline* est pauvre en saponosides. Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Rohit et al., (2019)** qui ont montré l'absence des saponosides. Cependant **Bougoffa et Hamidi, (2020)** ont observé une présence significative de saponosides dans leur étude sur l'activité antibactérienne de l'extrait de *Spirulina platensis* sur différentes souches pathogènes, ainsi que les travaux de **Kambou, (2018)** qui ont été noté une faible présence de saponine dans *Spirulina platensis* cultivée en côte d'ivoire.

- **Anthocyanes**

Nous avons révélé une absence d'une teinte bleue-violette dans les extraits ce qui indique l'absence des anthocyanes dans la *Spiruline*. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Wrolstad, (2004)** qui ont indiqué la même chose.

- **Leuco anthocyanes**

L'absence de la coloration rouge dans tous les extraits confirme l'absence des leuco anthocyanes chez la *Spiruline*. Nos résultats contredisent ceux de **Kambou, (2018)** provenant de côte d'ivoire, qui a été indiqué une faible présence dans les extraits de *Spirulina platensis*.

III. Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Dans le cadre de notre recherche, nous avons effectué une chromatographie sur couche mince de *Spirulina platensis* en utilisant de divers systèmes solvants.

L'analyse phytochimique réalisée sur les trois extraits des deux régions indique que les échantillons présentent des tâches distinctes en fonction des différents révélateurs et systèmes d'élution employés.

Les chromatogrammes ont été observés sous une lampe UV à deux longueurs d'onde de 254 nm et 365 nm. Sachant que les spots sont visualisés avant et après révélation.

▪ Mise en évidence des pigments

La *Spiruline* est riche en pigments dotés de propriétés bioactives. L'analyse par chromatographie sur couche mince CCM couplée à une observation sous UV 365nm permet de caractériser ces composés fluorescents.

On note qu'il y a des variations concernant la quantité et la couleur des taches entre divers solvants d'extraction dans les deux systèmes solvants, ainsi que ces systèmes permettent une bonne séparation des pigments qui favorise la migration des composés peu polaire comme la chlorophylle, les caroténoïdes etc.... ou les composés de moyenne polarité.

Les CCM observées sous UV à 365 nm et en spectre visible ont montré des taches de diverses couleurs, comme le rouge sombre, le bleu, l'orange, le jaune, le rouge orangé, le bleu turquoise, le rouge brun et le vert. Ces diverses taches mettent en évidence les pigments présents dans la *Spiruline*.

Nous avons observé dans le profil chromatographique des taches rouge sombre dans la zone non polaire sur un fond fluorescent qui représente la chlorophylle, moins lipophile, et qui indique un RF moyen ainsi qu'une forte absorption. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Casal, 2012**) qui indique la présence de chlorophylle dans la *Spiruline* avec un taux de 1%. La chlorophylle a un rôle crucial dans le processus de la photosynthèse et susceptible à l'oxydation (**Humphrey, 2004**). Une multiple tache dans le spectre visible allant du jaune à l'orange dans une zone variable indique la présence de caroténoïdes avec des Rf variables donc plusieurs composants tels que le bêta-carotène (orange), Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Gershwin et Belay, 2008**) qui indique la présence de caroténoïdes à un taux de 50% dans la *Spiruline* ainsi que les travaux de (**Sguera, 2008**) (Figure 26. A).

Selon **Takaichi., (2011)**, ces pigments qui ont des propriétés antiradicalaires, s'accroissent en présence de stress oxydatif. Les taches de différentes intensités rouge orangé vif, identifiées dans le profil de chromatographie en phase polaire qui migre légèrement, indiquent la présence de phycocyanines (Figure 27.B). Nos résultats sont en concordance avec les travaux de

(Sguera, 2008) qui indique que la phycocyanine se distingue comme le pigment le plus remarquable présent dans la *Spiruline*. C'est un indicateur de qualité. Son intensité représente l'efficacité de l'extraction (Vonshak, 1997). Une coloration bleu vert turquoise semblable à la phycocyanine et moins intense dans le spectre visible indique une présence d'allo phycocyanine (Figure 26. A). Nos résultats sont en accord avec les travaux de Glazer, (1994) qui indique la présence de phycobiliprotéine à un taux 1-5% (dont une partie est de allo phycocyanine) dans la *Spiruline*. Ces pigments sont essentiels dans le processus de transfert d'énergie photovoltaïque (Glazer, 1994).

■Mise en évidence des métabolites secondaires par révélation

Le profile chromatographie observée sous UV à 365 nm et en spectre visible et après révélation par le révélateur (vanilline sulfurique a 1%) ont montré des taches de diverses couleurs, comme le violet, le bleu et le vert. Sachant qu'il est possible que certaines tâches soient associées à plusieurs catégories de métabolites secondaires. Cette étude qualitative a souligné que ces échantillons analysés contiennent des triterpènes (coloration violette) et des stérols (coloration bleue) (Figure 30.B).

Toutefois, la révélation par le révélateur KOH a montré aussi des fluorescences jaunes et des fluoresces rouges. En plus de la présence d'Anthrones et anthranols (fluorescente en jaune) et aussi les dérivés anthracéniques (fluorescentes en rouge) sous la lampe UV à 365 nm. (Figure 28. B) .

Tableau 17. Détection des phytoconstituants par différents révélateurs .

Métabolites souhaités	Révélateur	Xb			Xm			
		MB	DB	ACB	MM	DM	ACM	
<i>Stérols</i>	Vanilline sulfurique	-	+	+	-	+	+	
		+	+	+	+	+	+	
		-	-	-	-	-	-	
<i>Terpènes</i>	KOH	+	+	+	+	+	+	
		-	-	-	-	-	-	
<i>Lignans</i>		+	+	+	+	+	+	
		-	-	-	-	-	-	
<i>Anthrones et anthranols</i>		-	-	-	-	-	-	
		+	+	+	+	+	+	
<i>Quinones libres</i>		+	+	+	+	+	+	
		-	-	-	-	-	-	
<i>Dérivés anthracéniques</i>		-	-	-	-	-	-	
		+	+	+	+	+	+	
<i>Coumarines</i>		-	-	-	-	-	-	

Xb : souche algérienne

Xm : souche malaisienne

- **Rapports frontaux**

Les rapports frontaux suivants ont été observés dans les résultats de chromatographie sur couche mince (CCM) en utilisant divers révélateurs :

- **Révélation par vanilline sulfurique**

Dans l'extrait d'acétate d'éthyle de Xb, les spots ont les couleurs et valeurs suivantes : $Rf_1 \approx 0,32$ (orange clair), $Rf_2 \approx 0,93$ (vert foncé), $Rf_3 \approx 0,1$ (orange foncé), tandis que dans l'extrait dichlorométhane, les spots ont les valeurs de Rf et les couleurs suivantes : $Rf_1 \approx 0,30$ (orange clair), $Rf_2 \approx 0,57$ (jaune), $Rf_3 \approx 0,91$ (vert foncé), $Rf_4 \approx 1$ (orange foncé), cependant l'extrait méthanol, les spots avec $Rf_1 \approx 0,33$ (jaune / orange) et $Rf_2 \approx 0,83$ (vert foncé), $Rf_3 \approx 0,95$ (vert foncé).

Dans l'extrait d'acétate d'éthyle de Xb les taches présentent les teintes et les valeurs ci-après : On a approximativement $Rf_1 \approx 0,31$ (orange foncé), $Rf_2 \approx 0,37$ (vert clair), $Rf_3 \approx 0,92$ (vert foncé) et $Rf_4 \approx 0,98$ (orange foncé). Pour extrait dichlorométhane, les valeurs de Rf et les teintes pour chaque spot sont les suivantes : $Rf_1 \approx 0,37$ (vert sombre), $Rf_2 \approx 0,43$ (vert sombre), $Rf_3 \approx 0,73$ (vert sombre), $Rf_4 \approx 0,85$ (vert sombre), $Rf_5 \approx 0,89$ (vert sombre), $Rf_6 \approx 0,94$ (vert sombre) et $Rf_7 \approx 0,06$ (orange foncé). Toutefois, pour l'extrait méthanol, les spots présentent des valeurs de Rf_1 approximativement égales à 0,56 (jaune) et Rf_2 aux alentours de 0,73 (vert clair) (Figure 30.B).

- **Révélation par KOH**

Dans l'extrait d'acétate d'éthyle Xa, les spots ont les couleurs et valeurs suivantes : $Rf_1 \approx 0,20$ (orange clair), $Rf_2 \approx 0,92$ (vert sombre), $Rf_3 \approx 0,98$ (orange foncé), tandis que dans l'extrait dichlorométhane, les spots ont les valeurs de Rf et les couleurs suivantes : $Rf_1 \approx 0,32$ (orange clair), $Rf_2 \approx 0,92$ (vert sombre), $Rf_3 \approx 0,97$ (orange foncé), cependant l'extrait méthanol, les spots avec $Rf_1 \approx 0,20$ (jaune) et $Rf_2 \approx 0,73$ (vert clair), $Rf_3 \approx 0,85$ (vert foncé), $Rf_4 \approx 0,98$ (orangé).

Dans l'extrait d'acétate d'éthyle Xm, les taches présentent les teintes et les valeurs ci-après : On a approximativement $Rf_1 \approx 0,37$ (orange foncé), $Rf_2 \approx 0,40$ (vert clair), $Rf_3 \approx 0,62$ (orangé) et $Rf_4 \approx 0,98$ (vert sombre), $Rf_5 \approx 1$ (orange foncé), ainsi que dichlorométhane, les valeurs de Rf et les teintes pour chaque spot sont les suivantes : $Rf_1 \approx 0,39$ (vert), $Rf_2 \approx 0,43$ (vert turquoise), $Rf_3 \approx 0,73$ (vert sombre), $Rf_4 \approx 0,85$ (vert sombre), $Rf_5 \approx 0,89$ (vert sombre), $Rf_6 \approx 0,94$ (vert sombre) et $Rf_7 \approx 1$ (orange foncé). Toutefois, pour l'extrait méthanol, les spots présentent des valeurs de Rf_1 approximativement égales à 0,20 (vert clair) et Rf_2 aux alentours de 0,75 (vert clair) (Figure 30.A).

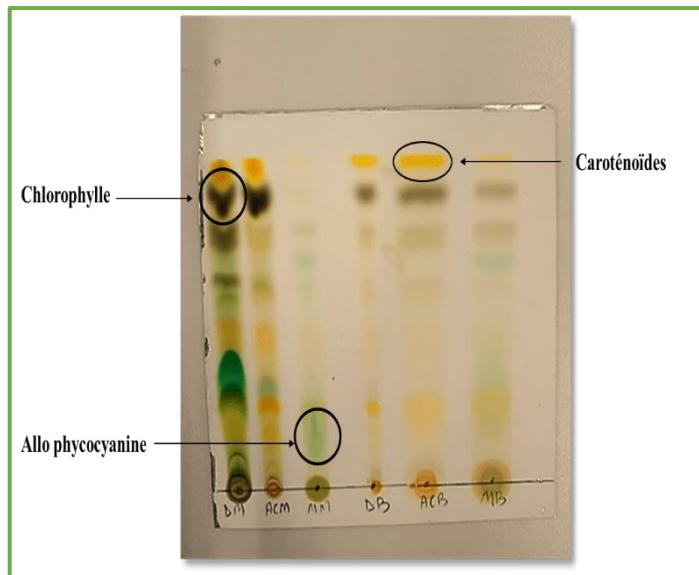


Figure A

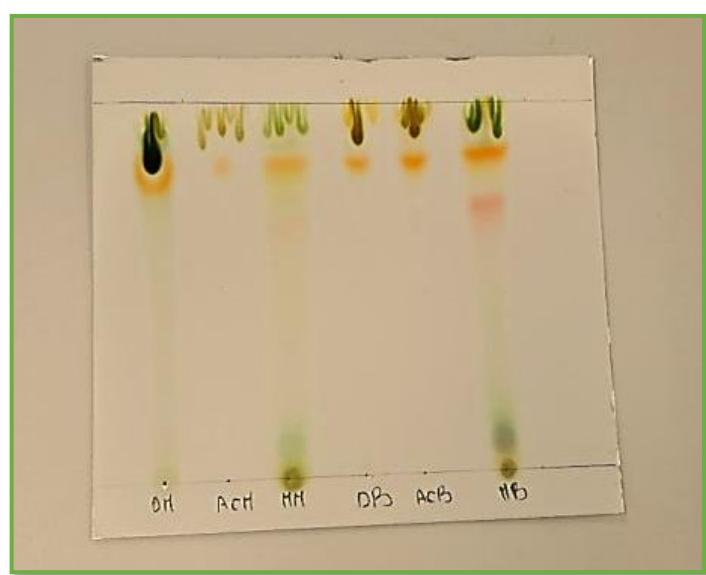


figure B

Figure 26. A. Chromatogrammes des 6 extraits dans le spectre visible avant révélation dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).

Figure 26. B. Chromatogrammes des 6 extraits dans le spectre visible avant révélation dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol : (40/20/20) (v/v/v).

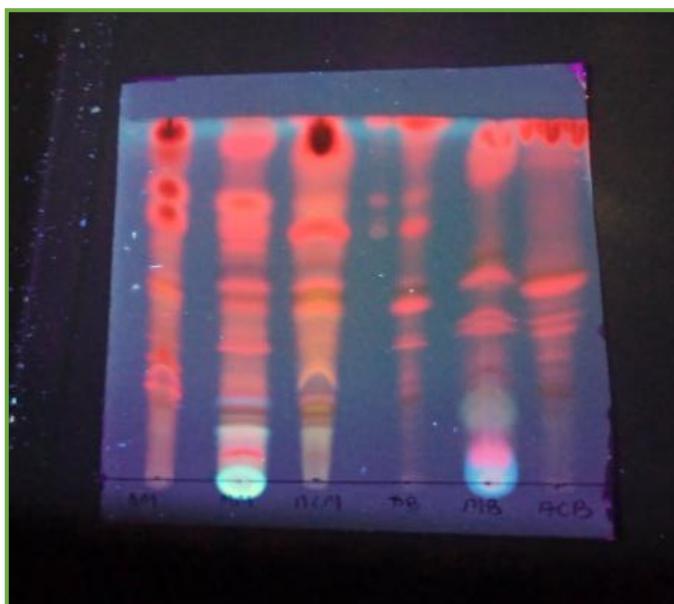


Figure.27. A

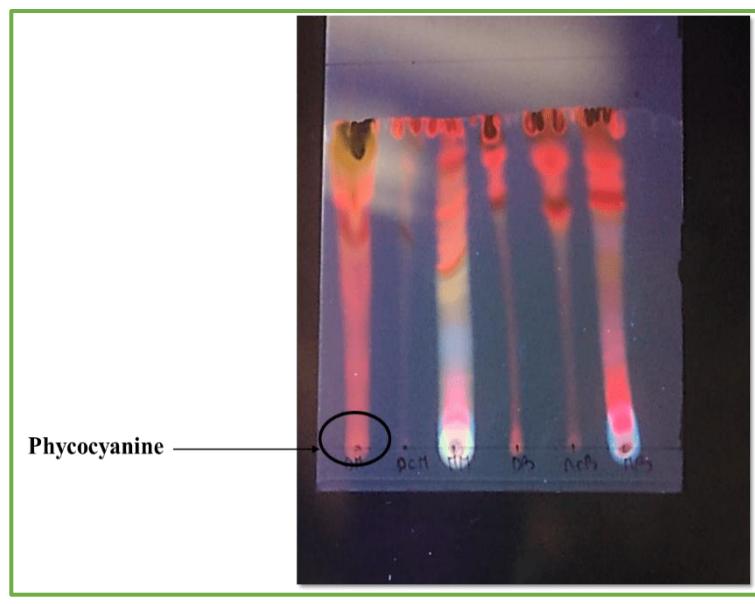


Figure.27. B

Figure 27. A. Chromatogrammes des 6 extraits sous UV 365 nm avant révélation dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol (20/70/10) (v/v/v).

Figure 27. B. Chromatogrammes des 6 extraits sous UV 365 nm avant révélation dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol : (40/20/20) (v/v/v).

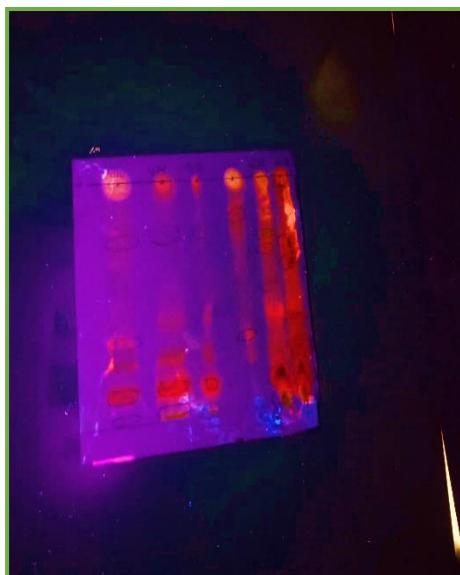


Figure 28. A

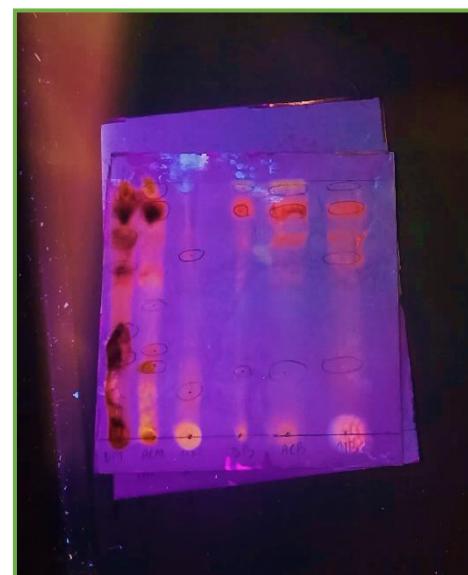


Figure 28. B

Figure 28. A. Chromatogramme avant chauffage révélé avec KOH éthanolique (10%) sous UV 365nm dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).

Figure 28. B. Chromatogramme après chauffage révélé avec le révélateur KOH éthanolique (10%) sous UV 365 nm dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).

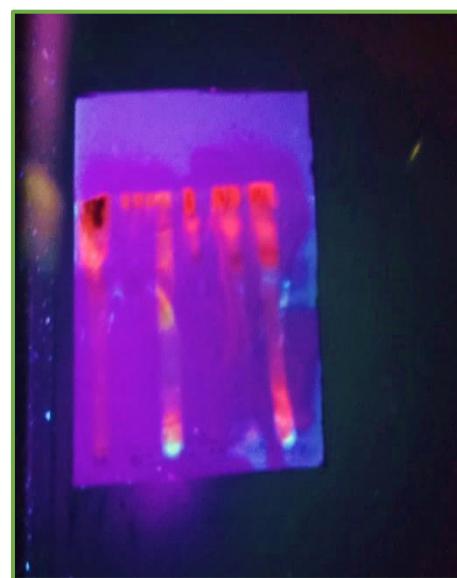


Figure 29. Chromatogramme avant chauffage révélé avec KOH éthanolique (10%) sous UV 365nm dans le système Chloroforme/Acétate d'éthyle/Méthanol :(40/20/20) (v/v/v).

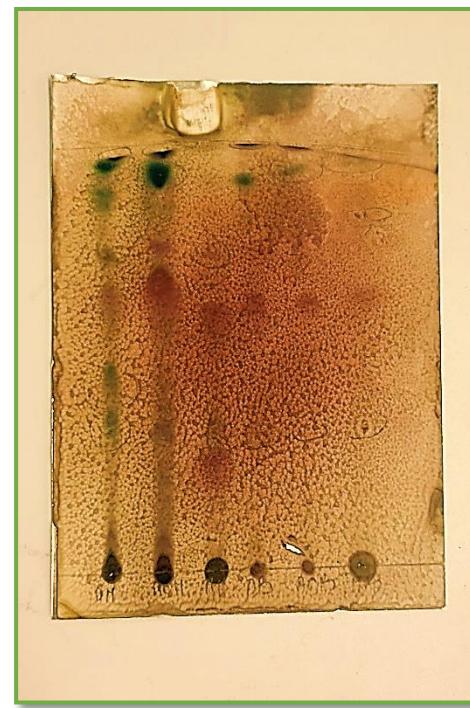
**Figure.30. A****Figure.30. B**

Figure30. A. Chromatogramme après chauffage révélé avec KOH méthanolique (10%) dans le spectre visible dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).

Figure30. B. Chromatogramme après chauffage révélé avec le révélateur la vanilline sulfurique dans le spectre visible dans le système Toluène/Chloroforme/Méthanol : (20/70/10) (v/v/v).

IV. Détermination du contenu total en polyphénols et la teneur en flavonoïdes

IV.1. Détermination du contenu total en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux présente dans les deux souches de spiruline a été déterminée par une technique spectrophotométrique dans le tableau dissous :

Tableau18. Teneurs en polyphénols totaux des trois extraits de Xb et Xm.

	Teneur en polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/ mg}$)		
	Extrait de MeOH	Extrait AcOEt	Extrait DCM
Xb	$36,45 \pm 0,33$	$33,11 \pm 0,50$	$5,86 \pm 0,16$
Xm	$35,66 \pm 0,16$	$30,27 \pm 0,67$	$1,94 \pm 0,50$

Une courbe d'étalonnage a été réalisée à partir de différentes concentrations d'acide gallique préparée à partir d'une solution mère. Cette courbe a permis d'estimer la teneur en composés phénoliques des extraits analysés.

La concentration en polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression obtenue à partir de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG /mg d'extrait}$). L'équation de la droite de régression est la suivante :

$$Y = 0,0034x + 0,2205$$

Avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,9624$,

La courbe d'étalonnage suivante montre les absorbances de l'acide gallique en fonction de leurs concentrations :

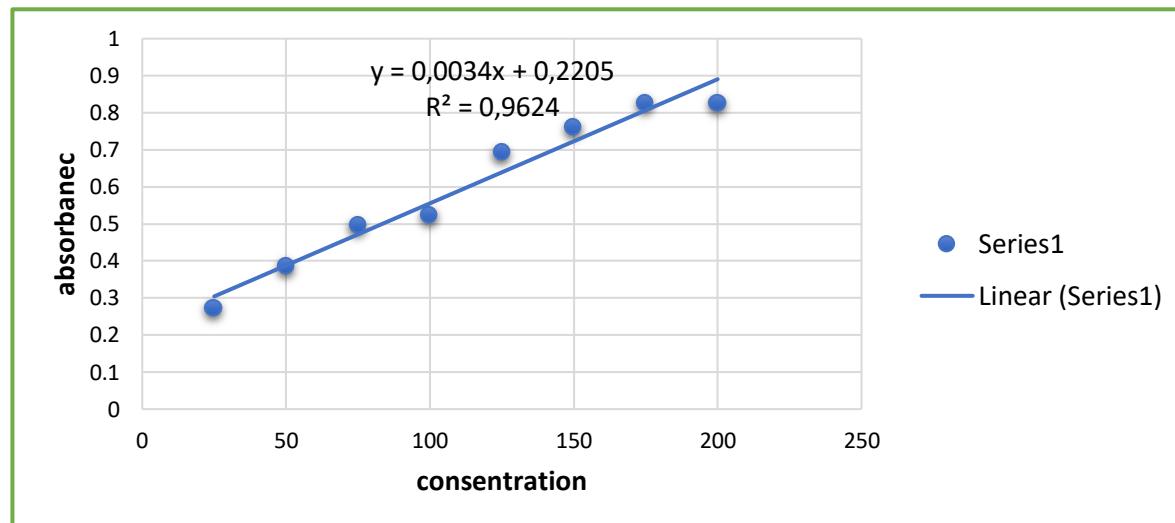


Figure 31. La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux sont présentés dans la (figure 32).

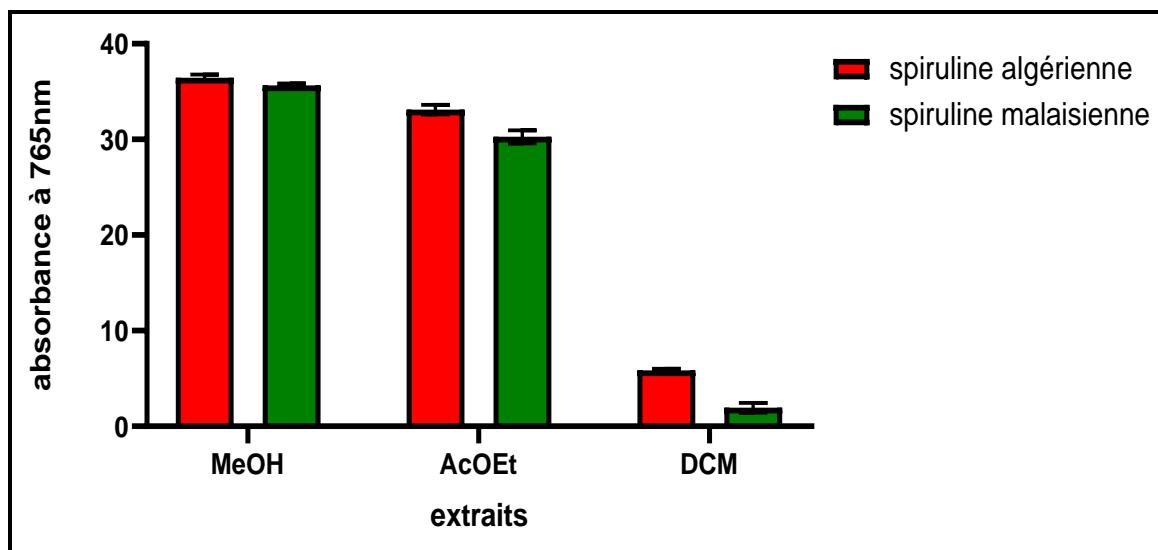


Figure 32. Evaluation de la teneur de polyphénols totaux des extraits de *Spiruline* algérienne et malaisienne.

▪ Description des résultats

L'étude révèle des variations significatives dans les teneurs en polyphénols totaux des extraits de *Spiruline* (Algérienne et malaisienne) selon le solvant utilisé. Les extraits de MeOH présentent les concentrations les plus élevées avec $36,45 \pm 0,34 \mu\text{g EAG/mg}$ pour la *Spiruline* algérienne et $35,67 \pm 0,17 \mu\text{g EAG/mg}$ pour la *Spiruline* malaisienne .Les extraits AcOEt montrent des valeurs légèrement inférieures ($30,27 \pm 0,68 \mu\text{g EAG/mg}$ pour la *Spiruline* malaisienne et $33,12 \pm 0,51 \mu\text{g EAG/mg}$ pour s, algérienne), Tandis que les extraits DCM affichent les teneurs les plus faibles ($5,86 \pm 0,17 \mu\text{g EAG/mg}$ pour s, algérienne et $1,94 \pm 0,51 \mu\text{g EAG/mg}$ pour s, malaisienne).

▪ Discussion des résultats

La littérature scientifique révèle une importante variabilité inter-études concernant les teneurs en polyphénols totaux de *Spirulina sp*, avec des valeurs allant de $1,6 \mu\text{g EAG/mg}$ (**Lahoucine, 2019**) à $56,4 \mu\text{g EAG/mg}$ (**Ngo Matip Marthe et al.,2022**). Des valeurs intermédiaires ont été rapportées par divers auteurs : (**Dahmouni et al.,2025**) montre une valeur de $8,90 \mu\text{g EAG/mg}$ et $13,65 \mu\text{g EAG/mg}$ selon **Ould Bellahcen et al., (2020)**. $7,745 \mu\text{g EAG/mg}$ (**Feredj et al.,2022**) et $2,44 \mu\text{g EAG/mg}$ (**Alouach & Boumediene, 2023**), Une étude récente **Lahcini et al., (2022)** a montré des teneurs proches pour deux extraits méthanolique ($7,98$ et $12,54 \mu\text{g EAG/mg}$ matière sèche).

Nos résultats obtenus par extraction méthanolique ($X_b = 35 \mu\text{g EAG/g}$; $X_m = 36 \mu\text{g EAG/mg}$), Confirment l'efficacité de ce solvant pour l'extraction des composés

phénoliques. Nos résultats en accord avec les travaux d'**Abdille et al., (2005)** qui ont également démontré la supériorité des extraits méthanoliques en termes de richesse en polyphénols.

Cette dispersion des données peut s'expliquer par plusieurs facteurs bien documentés (**Maisuthisakul et al., 2007 ; Ksouri et al., 2009**) :

- Conditions environnementales (climat, température).
- Paramètres génétiques (origine géographique, variété).
- Méthodologies d'extraction et de dosage.
- Conditions de stockage des échantillons.

IV.2. Détermination de la teneur des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été réalisée selon la méthode au trichlorure d'ammonium (AlCl_3), une technique spectrophotométrique largement validée. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g qe/mg}$).

Tableau 19. Teneurs en flavonoïdes des trois extraits de Xb et Xm.

	Teneur flavonoïdes ($\mu\text{g EQ / mg}$)		
	Extrait MeOH	Extrait DCM	Extrait AcOEt
Xm	31,5277±0,2946	10,6944±0,5892	35,7638±0,4419
Xb	32,9861±0,4419	23,0555±0,2946	42,2222±0,1473

La courbe d'étalonnage établie à partir de solutions standards de quercétine a montré une excellente linéarité. La relation concentration-absorbance a été décrite par l'équation de régression linéaire suivante :

$$\boxed{Y = 0,0048x}$$

Avec un coefficient de détermination est **$R^2=0,9965$** ,

La courbe d'étalonnage suivante montre les absorbances de la quercétine en fonction de leurs concentrations :

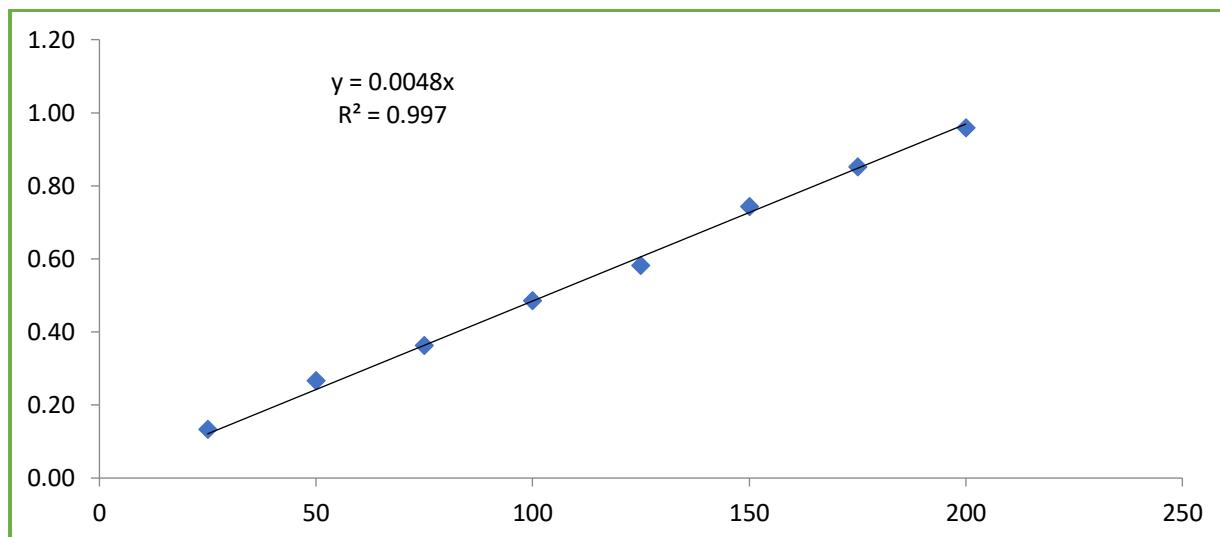


Figure 33. La courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont présentés dans la (figure 34).

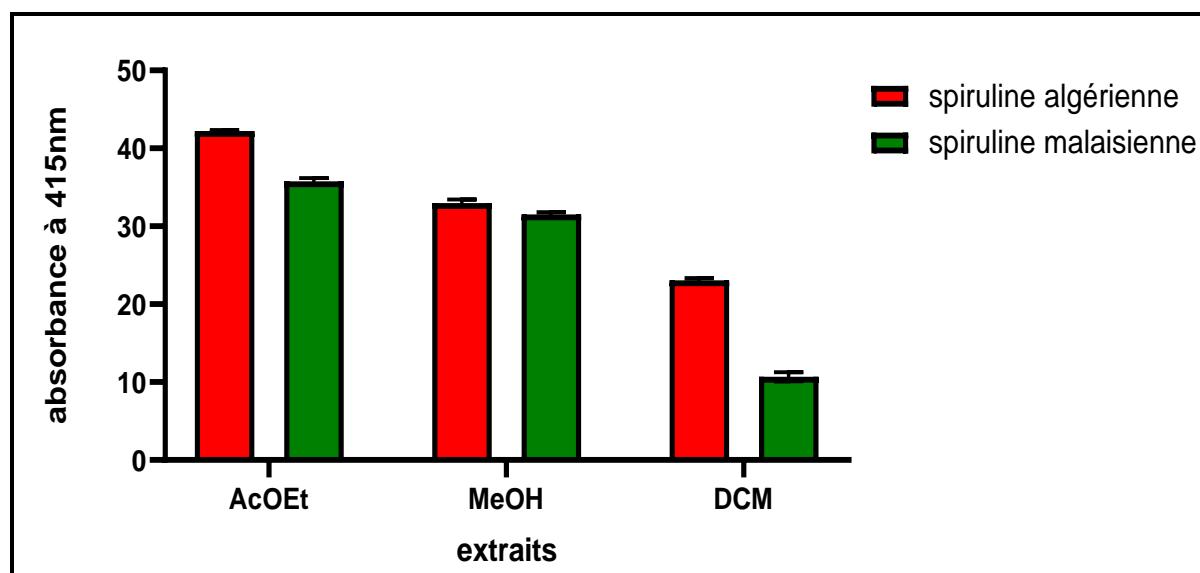


Figure 34. Evaluation de la teneur des flavonoïdes des extraits de *Spiruline* algérienne et malaisienne.

▪ Description des résultats

L'étude révèle des variations significatives des teneurs en flavonoïdes (exprimées en $\mu\text{g eq/mg}$) selon le type de solvant d'extraction et la souche de *Spiruline* (algérienne et malaisienne). Comme la montre clairement la figure 34. Les extraits AcOEt présentent les concentrations les plus élevées avec $35,76 \pm 0,44 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xm et $42,22 \pm 0,15 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xa. Suivis des extraits MeOH ($31,53 \pm 0,29 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xm et $32,99 \pm 0,44 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xa). Les extraits de DCM montrent les teneurs les plus faibles ($10,69 \pm 0,59 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xm et $23,06 \pm 0,29 \mu\text{g eq/mg}$ pour Xa).

- **Discussion des résultats**

Les résultats obtenus lors de cette étude ($X_m = 35,76 \mu\text{g}$ et $X_b = 42,22 \mu\text{g}$ pour l'extrait AcOEt montrent une teneur en flavonoïdes plus élevée par rapport aux autres extraits, ce qui est en accord avec les travaux de **Natalia Gulo et al., (2021)**, qui ont également observé une meilleure extraction des flavonoïdes avec ce solvant.

Cependant la comparaison avec d'autres études reste délicate en raison des différences méthodologiques (extraction, dosage, matrice végétale), comme le soulignent **Trabelsi et al., (2010)**. Par exemple, **Dahmouni et al., (2025)** rapportent une teneur en flavonoïdes de $(9,10 \pm 0,72 \mu\text{g qe /mg})$ **Rohit et al., (2019)** $(51,92 \pm 0,07 \mu\text{g qe /mg})$ **Pereira et al., (2019)** $(22,37 \pm 0,14 \mu\text{g qe /mg})$ **Ngo Matip et al., (2022)** $21,2 \mu\text{g}$, Tandis que **Diaronuesanti et al., (2020)** et **Kumar et al., (2022)** obtiennent des valeurs nettement inférieures.

D'une manière générale, l'évaluation de la concentration des flavonoïdes repose sur la capacité des solvants à solubiliser les composés flavonoïdiques, Une solubilité qui est influencée par la quantité, le genre et l'emplacement de la liaison entre les glucides et les flavonoïde (**Lapronik et al., 2005**).

❖ **Analyse statistique**

Tous les résultats sont représentés en termes de moyenne $\pm SD$ et ont été évalués par analyse de variance ANOVA en utilisant le logiciel Graph Pad prism, version 8.4.0. les valeurs $P < 0,05$ ont été considérées comme significatives.

V. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *Spiruline* de deux régions, le test DPPH ainsi que les tests ABTS et FRAP ont été effectués. Ces méthodes sont reconnues comme étant les plus couramment utilisées. L'activité antioxydante des extraits de *Spirulina platensis* provenant du CH_2Cl_2 , AcOEt et MeOH a été évaluée en utilisant le BHA, le BHT et alpha tocophérols comme standards.

On constate que les espèces présentent des tendances différentes selon la méthode appliquée. Ce qui peut s'expliquer par leurs mécanismes de réaction, ainsi que par les propriétés des composés antioxydants présents dans les extraits à savoir la solubilité le potentiel redox la spécificité et le mécanisme d'action (**Prior, 2005**).

Tableau 20. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité antioxydante présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC_{50} calculées pour chaque extrait testé.

Activité Anti oxydante			
	DPPH•	ABTS	FRAP
MB	$IC_{50} = 6,51 \pm 2,13 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 13,73 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 21,98 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$
ACB	$IC_{50} = 14,52 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 14,64 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 22,20 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$
DB	$IC_{50} = 15,72 \pm 1,23 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 21,72 \pm 1,03 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 30,13 \pm 0,93 \mu\text{g/ml}$
MM	$IC_{50} = 22,11 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 18,24 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$	<800
ACM	$IC_{50} = 25,09 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 67,24 \pm 1,28 \mu\text{g/ml}$	<800
DM	$IC_{50} = 39,14 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 69,93 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$	<800
Standards			
BHA	$IC_{50} = 6,14 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$	/
BHT	$IC_{50} = 12,99 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$	$IC_{50} = 1,29 \pm 0,30 \mu\text{g/ml}$	/
α-Tocophérol	$IC_{50} = 13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$	/	$IC_{50} = 34,93 \pm 2,38 \mu\text{g/ml}$
Acid ascorbique	/	/	$IC_{50} = 6,77 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$

V.a. Activité antiradicalaire au DPPH•

Dans la présente étude, nous évalué l'activité anti-radicalaire des extraits de *Spirulina platensis* en mesurant les concentrations inhibitrices à 50 % (IC_{50}) ; en se basant sur le potentiel d'une substance à diminuer le radical DPPH• comparativement à un antioxydant de référence (BHA et BHT ainsi qu'alpha tocophérol).

Le calcul de la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH• a été réalisé par régression linéaire des taux d'inhibition déterminés en fonction de différentes concentrations des extraits préparés. L' IC_{50} et l'activité antioxydante de l'extrait testés sont inversement proportionnels (Prakash et al., 2007).

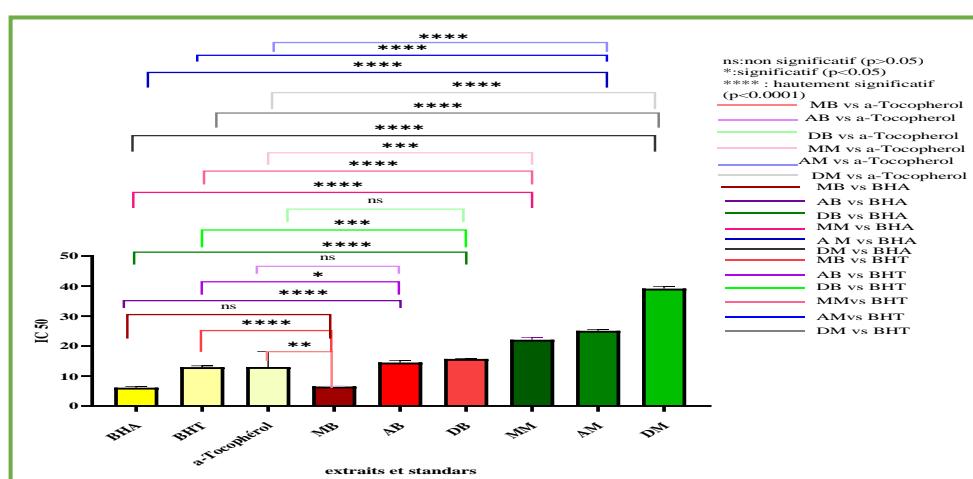


Figure 35.A Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC_{50} des extraits et des standards de deux régions dans l'activité antiradicalaire au DPPH.

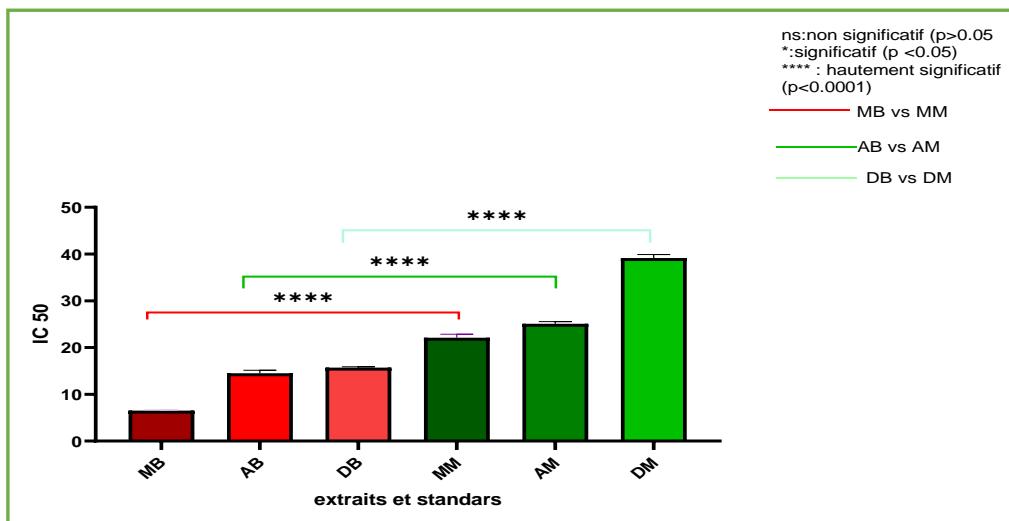


Figure 35.B Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité antiradicalaire au DPPH.

■ Description des résultats

Le tableau les valeurs d'IC₅₀ pour les différents extraits de *Spirulina platensis* ainsi que les contrôles positifs (BHA/BHT/tocophérol). Les résultats montrent que MB a révélé la meilleure activité inhibitrice (IC₅₀ = 6,51 ± 2,13 µg/ml) qui est proche du BHA (IC₅₀ = 6,14 ± 0,41 µg/ml), suivie de ACB (IC₅₀ = 14,52± 1,02 µg/ml) et DB (IC₅₀ = 15,72 ± 1,23 µg/ml) qui proche a BHT et tocophérol (IC₅₀ = 12,99±0,41 et IC₅₀ = 13,02±5,17 µg/ml) respectivement. À l'inverse. L'extrait DM présente des IC₅₀ le plus élevées (IC₅₀ = 39,14 ± 0,12 µg/ml). Tandis que les deux extract ACM et MM sont proches (IC₅₀ = 25,00±0,12 et IC₅₀ = 22,94±1,02 µg/ml respectivement) (Figure 35.A) (Figure 35.B).

■ Discussion des résultats

Les résultats ont montré que l'activité de piégeage des radicaux du DPPH était maximale pour l'extrait méthanolique de Xb de *S. platensis* avec (IC₅₀ = 6,51 ± 2,13 µg/ml) qui supasse le BHT et l'alpha tocophérol (IC₅₀ = 12,99±0,41 et IC₅₀ = 13,02±5,17 µg/ml) respectivement et très proche du BHA (IC₅₀ = 6,14 ± 0,41 µg/ml). Ces résultats sont supérieurs aux résultats de Dahmouni et al., (2025) qui montré une valeur de IC₅₀ estimée à (IC₅₀ = 91,07 ± 7,44 µg/ml) ainsi que l'étude de Saly et al., (2021) qui a montré une valeur de IC₅₀ estimée à 27,39 mg/ml.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait AM (IC₅₀ = 14,52±1,02 µg/ml) possède une activité antiradicalaire similaires aux standards BHT et tocophérol (IC₅₀ = 12,99±0,41 et IC₅₀ = 13,02±5,17 µg/ml) respectivement.

Résultats plus importants que ceux cités dans l'étude de Safari et al., (2020) avec (IC₅₀ = 45,75±2,16 µg /ml pour *Spirulina platensis* ainsi que *Spirulina maxima* avec IC₅₀ = 20 ug/ml),

Hamdy et al., (2014) avec ($IC_{50} = 47 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$) et **Yahiaoui et al., (2016)** avec une valeur de $IC_{50} = 182,3 \mu\text{g/ml}$. Cependant **Sowmya et al., (2021)** ont signalé un effet prononcé avec une valeur de ($IC_{50} = 4,12 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$) dans *spiruline* indienne.

On a noté que l'extrait DB présente l'effet anti-radicalaire le plus modéré par rapport aux extraits testés avec une ($IC_{50} = 39,14 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$).

L'activité anti-radicalaire des extraits pourrait s'expliquer par la présence de composés poly phénoliques (anthocyanes, Flavonoïdes...), Comme le confirme le test phytochimique.

En effet, les recherches de **Xu-Dan et al., (2011)** ont démontré que des éléments environnementaux tels que la température et l'exposition au soleil peuvent avoir un impact significatif sur certaines caractéristiques antioxydantes et anti-radicalaires.

V.b. Activité du piégeage du cation radical ABTS^{•+}

L'activité anti-radicalaire des extraits est également étudiée en utilisant le teste ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium pour donner le radical ABTS^{•+}. La génération du radical avant l'ajout des extraits est nécessaire afin d'éviter l'interférence des composés dans la formation du radical ce qui conduit à une surestimation de la capacité antioxydante (**Katalinic et al., 2006**).

La détermination de la concentration inhibitrice des différents extraits en comparant avec les standards BHA et BHT sont illustrés dans la figure ci-dessous :

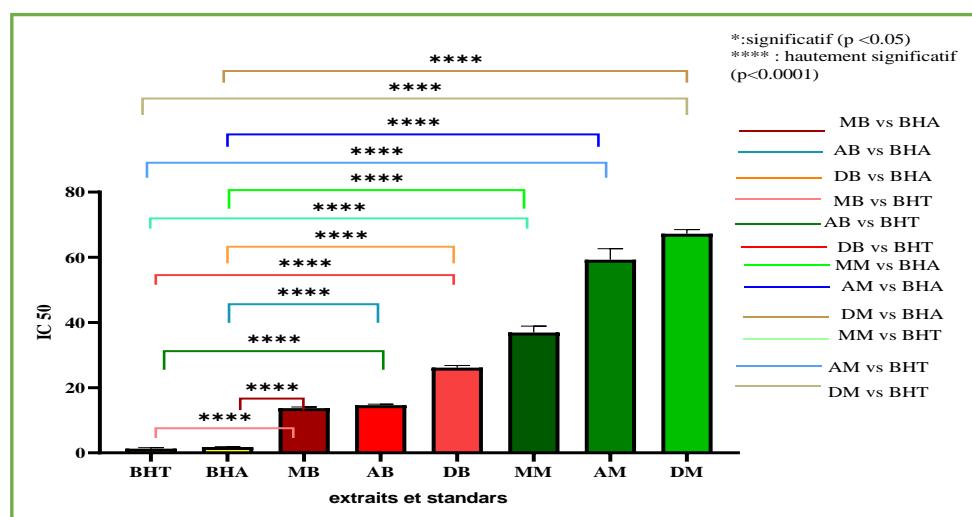


Figure 36.A Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ et standards des extraits de deux régions dans l'activité du test ABTS.

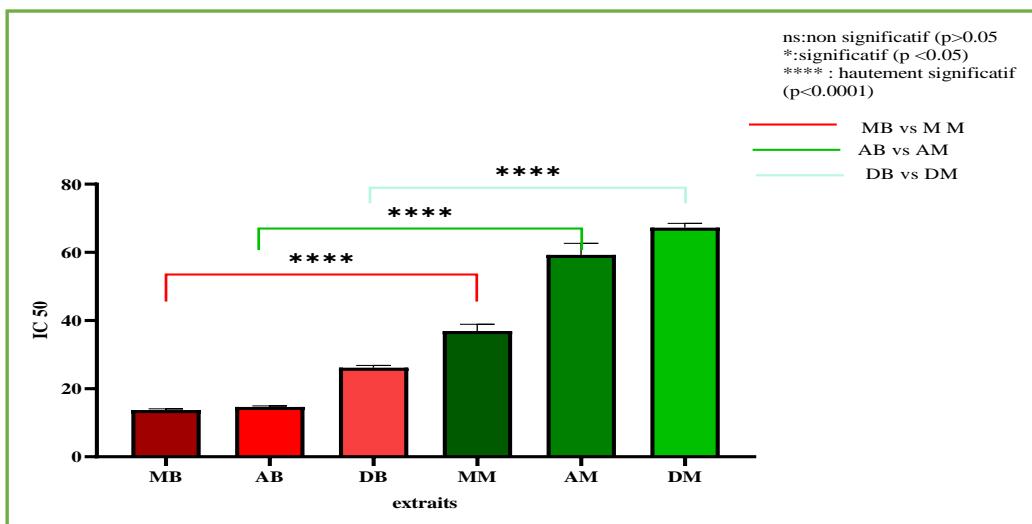


Figure 36.B Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité du test ABTS.

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé (Une valeur plus faible de l'IC₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée) car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50% (Kamal, 2015).

■ Description des résultats

Les résultats obtenus montrent que l'extrait MB présente une capacité de piégeage du radical ABTS•+ plus marquée, avec une concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) de $13,73 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$. Suivent l'extrait AB (IC₅₀ = $14,64 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$), MM (IC₅₀ = $18,24 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$) et DB (IC₅₀ = $21,72 \pm 1,03 \mu\text{g/ml}$). Ces activités antioxydantes sont nettement supérieures à celles observées pour les extraits AM (IC₅₀ = $67,24 \pm 1,28 \mu\text{g/ml}$) et DM (IC₅₀ = $69,24 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$) (Figure 36.A) (Figure 36.B).

■ Discussion des résultats

Les résultats ont montré que l'activité de piégeage des radicaux du ABTS était maximale pour l'extrait méthanolique de XB avec un pouvoir de (IC₅₀ = $12,73 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$) mais supérieur à BHT et BHA (IC₅₀ = $1,29 \pm 0,30$ et IC₅₀ = $1,81 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$) respectivement. Les résultats de Aissaoui et al., (2017) montrent qu'elle possède une activité inhibitrice (IC₅₀ = $45,69 \pm 0,95 \mu\text{g/ml}$) pour la *Spiruline* égyptienne .Ainsi une activité inhibitrice de (IC₅₀ = $1,28 \pm 0,06 \mu\text{g/mol Trolox/g/dw}$ provenant de Maroc) a été mentionnée dans l'étude de Touria et al., (2020) et (IC₅₀ = $484,56 \pm 2,16 \mu\text{g Trolox/g}$ dans l'étude de kryszuk et al., (2024), aussi aux résultats de Dahmouni et al., (2025) ou l'activité inhibitrice de la *Spiruline* a montré une valeur d'IC₅₀ de $5,81 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$. En comparaison, Taiti et al., (2023), travaillant sur une souche originale d'Italie, ont rapporté une activité plus importante avec une IC₅₀ de $0,92 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$,

De même, **Wijayanti et al., (2024)** ont obtenu une inhibition plus marquée ($IC_{50} = 0,32 \pm 0,006 \mu\text{g/ml}$), surpassant à la fois nos résultats et ceux de **Agregán (2018)**.

Par ailleurs, **Helal et al., (2024)** ont noté une IC_{50} de $251 \pm 14,4 \mu\text{g/ml}$, Tandis que **Sung Park et al, (2018)** ont obtenu une valeur intermédiaire de $19,3 \pm 3,3 \mu\text{g/ml}$. Concernant la *Spiruline* originaire du Chili, **Pereira et al., (2019)** ont mesuré une IC_{50} de $14,73 \pm 0,14 \mu\text{mol Trolox/g}$.

Ces différences d'activité antioxydante peuvent s'expliquer par la richesse variable en composés phénoliques (phénols totaux et flavonoïdes), connus pour leur capacité à donner des électrons et des atomes d'hydrogène, grâce à leurs groupements hydroxyles (**Jayaprakasha et al., 2008**).

V.c. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

La méthode FRAP sert à évaluer la capacité d'une molécule antioxydante à transformer l'ion ferrique en milieu acide créant un complexe bleu de Tripyridyltriazine ferrique ($\text{Fe}^{3+}\text{TPTZ}$) qui se réduit ensuite en ion ferreux (Fe^{2+}) (**Singleton et al., 1999**).

Les valeurs IC_{50} ont été calculées puis comparées à celles des standards (acide ascorbique et α -tocophérol).

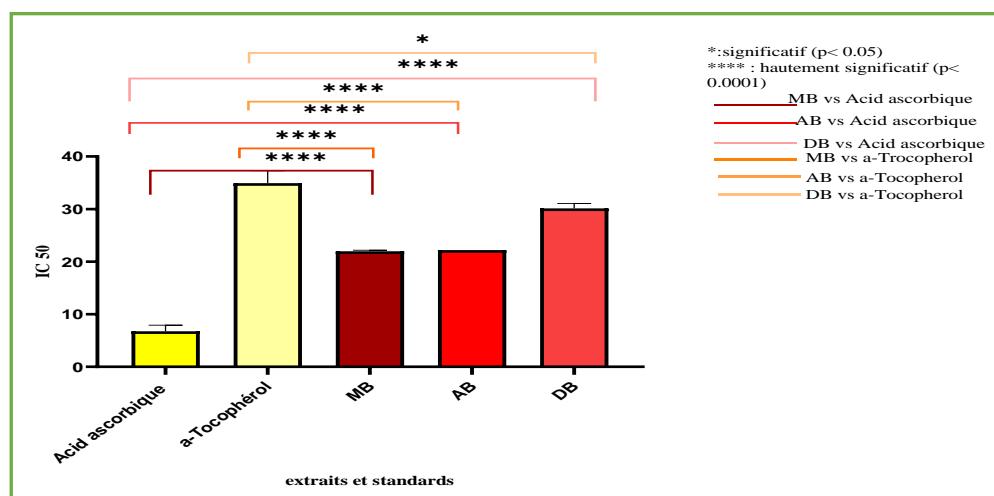


Figure 37. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC_{50} des extraits et standards de deux régions dans l'activité du test FRAP.

■ Description des résultats

Les résultats obtenus indiquent que le pouvoir réducteur des extraits est proportionnel à la concentration. En d'autres termes, la capacité à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) augmente avec la concentration des extraits. Ce qui est cohérent avec les principes du test FRAP.

Nous constatons que le pouvoir antioxydant le plus élevé qui correspond à la valeur d' IC_{50} la plus faible a été enregistrée avec la fraction de MB avec une concentration de IC_{50}

égale à $21,98 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ suivi de la fraction AM avec une concentration de IC₅₀ égale à $22,20 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ et enfin la fraction DB avec IC₅₀ égale à $30,13 \pm 0,93$, Ces effets sont modestes en comparaison avec l'acide ascorbique ($6,77 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$). Cependant, il est considéré comme étant puissant par rapport à l' α - tocophérol ($34,93 \pm 2,38 \mu\text{g/ml}$) (Figure 37).

■ Discussion des résultats

L'analyse comparative des résultats concernant la micro algue *Spirulina platensis* révèle que l'extrait méthanolique présente une capacité réductrice nettement supérieure à celle des extraits d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane. Cela indique que l'extrait de méthanol possède un potentiel réducteur nettement supérieur à celui de l' α -tocophérol.

L'étude menée par **Rohit et al., (2019)** sur la même microalgue indique que la fraction MeOH est la plus active avec une IC₅₀ de $0,5 \mu\text{g/ml}$ pour la *Spiruline* indienne, effet plus prononcé que le nôtre.

D'autres études sur *S. platensis* ont montré son potentiel antioxydant élevé avec une valeur de IC₅₀= $3,37 \text{ mmol TE/100}$ (**Vieira et al., 2021**), ($8,95 \pm 0,05 \text{ } (\mu\text{mol Tx/g})$) (**Pereira et al., 2019**) et ($1,46 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$) (**Chouala et al., 2023**). Ces résultats des études in vitro de *Spirulina platensis* la montrent comme étant hautement concentrées en antioxydants.

Selon l'étude de **Dahmouni et al., (2025)**, *Spirulina platensis* possède un pouvoir réducteur de (IC₅₀= $5,28 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$), (IC₅₀= $0,47 \pm 0,005 \mu\text{g/ml}$) (**Wijayanti et al., 2024**), ($0,051 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$) (**Safari et al., 2019**), (IC₅₀= $1,00 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$), (**Agregán et al., 2018**), Par contre, l'équipe de **Abughannam et al., (2019)** qui l'a suivie pendant 24h, a trouvé une activité de (IC₅₀= $421,76 \pm 6,96 \mu\text{g/ml}$).

D'après L'étude de **Sirinpa et al., (2024)** qui a montré un pouvoir réducteur de l'extrait aqueux de *Spirulina platensis* avec une (CI₅₀= $3,67 \pm 0,32 \mu\text{g /ml}$) ainsi que (CI₅₀= $6,67 \pm 0,46 \mu\text{g/ml}$) pour *Spirulina maxima* ; Cela met en évidence la richesse de *Spirulina platensis* en antioxydants.

Quelques études antérieures ont aussi démontré que le caractère réducteur d'un composé peut constituer un indicateur important de sa possible activité antioxydante (**Bougandoura & Bendimerad, 2012**).

VI. Evaluation de l'activité antidiabétique

Cette étude a évalué l'activité antidiabétique de *Spirulina platensis* en analysant l'inhibition de l'enzyme alpha-amylase par différentes fractions d'extraits, où l'activité inhibitrice a été quantifiée par la détermination des concentrations inhibitrices (IC_{50}) et comparée à celle de l'Acarbose comme standard de référence.

Tableau 21. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'activité anti-diabétique présente les pourcentage inhibition obtenus ainsi que les valeurs d IC_{50} calculées pour chaque extrait teste.

Activité anti -Diabétique	
MB	$IC_{50} = 19,62 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$
ACB	$IC_{50} = 21,79 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$
DB	$IC_{50} = 42,40 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$
MM	$IC_{50} = 24,32 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$
ACM	$IC_{50} = 39,59 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$
DM	$IC_{50} = 56,81 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$
Standards	
Acarbose	$IC_{50} = 3650,93 \pm 10,70 \mu\text{g/ml}$

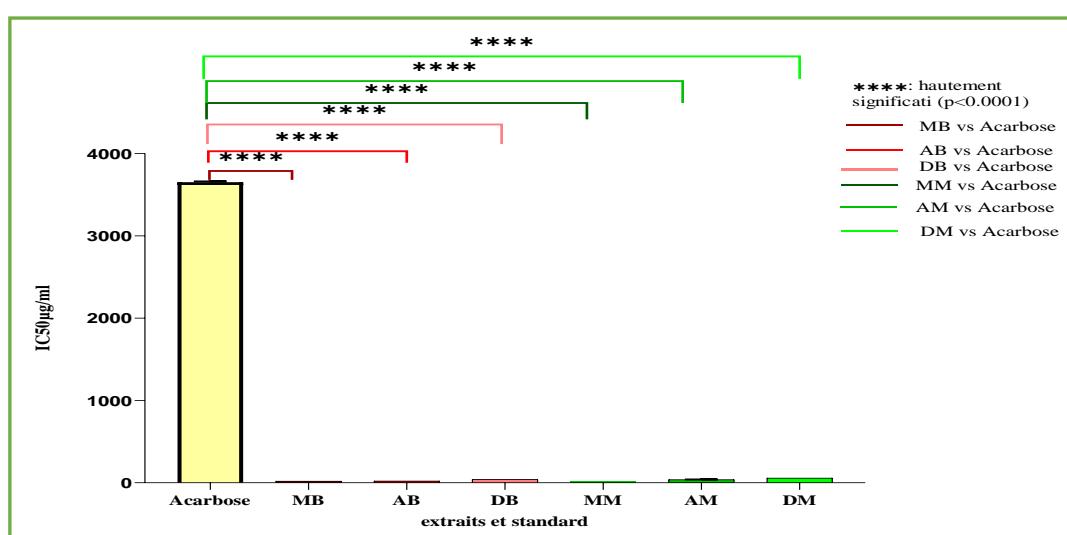


Figure 38.A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC_{50} des extraits et standards de deux régions dans l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase.

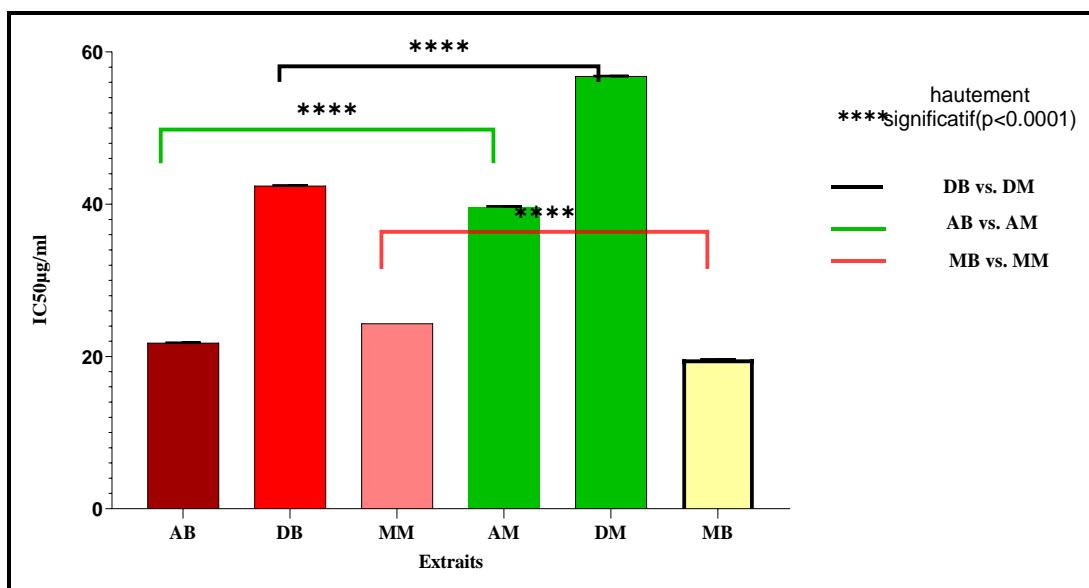


Figure 38.B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité antidiabétique.

■ Description des résultats

Les extraits de *Spirulina platensis* ont montré une activité inhibitrice variable de l'α-amylase, exprimée en termes d'IC₅₀ (µg/ml). L'extrait méthanolique MB a présenté la plus forte activité avec une IC₅₀ de 19,62±0,01µg/ml, suivi des extraits AB (21,79 ± 0,02 µg/ml), MM (24,32± 0,00µg/ml) et AM (39,59 ± 0,12 µg/ml). Les extraits dichlorométhane ont montré une activité plus faible, avec DB = 42,40 ± 0,07 µg/ml et DM = 56,81 ± 0,02 µg/ml.

À titre de comparaison, l'Acarbose a présenté une IC₅₀ de 3650,93 ± 10,70 µg/ml, indiquant une efficacité vachement moindre par rapport à tous les extraits testés (Figure 38.A).

■ Discussion des résultats

Nos résultats démontrent une activité inhibitrice significative de l'α-amylase par les extraits de *Spirulina platensis*, En particulier pour l'extrait MB (IC₅₀ = 19,62 µg/ml), qui surpasse largement l'acarbose (IC₅₀ = 3650,93±10,70 µg/ml). Ces observations corroborent partiellement les travaux de **Saly et al., (2020)**, qui rapportent une IC₅₀ de 13,31 mg/ml pour l'extrait méthanolique. Bien que nos valeurs soient nettement plus faibles. Probablement en raison de la différence méthodologique ou de la souche.

Nos pourcentages d'inhibition sont comparables à ceux rapportés par **Okechukwu et al., (2019)** (~27 %), confirmant la variabilité inter-études. Comme l'ont souligné **Mangambu Mokoso Jean de Dieu et al., (2014)**, cette activité antidiabétique est très probablement liée à la présence abondante de polyphénols (flavonoïdes, tanins) et d'alcaloïdes dans nos extraits.

Notamment dans les fractions polaires (méthanol, acétate d'éthyle). La performance la plus faible des extraits dichlorométhane (IC_{50} DB = $42,40 \mu\text{g/ml}$; IC_{50} DM = $56,81 \mu\text{g/ml}$) renforce l'hypothèse selon laquelle les composés polaires sont majoritairement responsables de l'effet inhibiteur.

D'après l'étude de **Rohit et al., (2019)**, l'extrait AcOEt présente une IC_{50} de $13,35 \pm 0,40 \mu\text{g/ml}$, traduisant une forte activité biologique. En comparaison, l'extrait AB affiche une IC_{50} de $21,79 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$, indiquant une activité modérée, tandis que l'extrait AM, avec une IC_{50} de $39,59 \pm 0,12 \mu\text{g/ml}$, se révèle nettement moins actif.

Par ailleurs, **Hu et al., (2019)** ont observé une inhibition significative de l' α -amylase avec une valeur d' IC_{50} de $313,6 \mu\text{g/ml}$. D'autres études, comme celles de **Vieira et al., (2021)** ($IC_{50} = 31,04 \pm 5,29 \mu\text{g/ml}$) et **Parbakaran et al., (2019)** ($IC_{50} = 231,45 \pm 0,47 \mu\text{g/ml}$), montrent également des valeurs plus élevées que les nôtres. Enfin, une étude récente de **Munawaroh, (2020)** a examiné l'activité inhibitrice *in vitro* de l' α -amylase salivaire humaine par la phycocyanine extraite d'*A. platensis*, rapportant une inhibition moyenne de 51 %, suggérant également le rôle potentiel de ce pigment dans l'effet antidiabétique. La comparaison avec ces résultats confirme l'effet inhibiteur puissant de l' α -amylase des souches en considération, soit algérienne ou malaisienne.

V. Evaluation de l'activité Anti-inflammatoire *in-vitro* par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA)

La dénaturation des protéines est parmi les causes de l'inflammation (**Williams et al., 2008**). La production d'auto-antigènes dans les maladies inflammatoires peut être due à la dénaturation des protéines *in vivo*. Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatique, hydrogène, hydrophobe et disulfure qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines (**Barros et al., 2008**).

Tableau 22. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'activité Anti inflammatoire présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs D' IC_{50} calculées pour chaque extrait teste.

Activité anti inflammatoire	
MB	$IC_{50} = 1,81 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$
ACB	$IC_{50} = 2,5 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$
DB	$IC_{50} = 3,27 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$
MM	$IC_{50} = 2,55 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$
ACM	$IC_{50} = 2,95 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$
DM	$IC_{50} = 3,36 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$
Standards	
Diclofénac	$IC_{50} = 0,17 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$

Notre résultat est comparé pour le Diclofénac, considérée dans ce test comme molécule de référence.

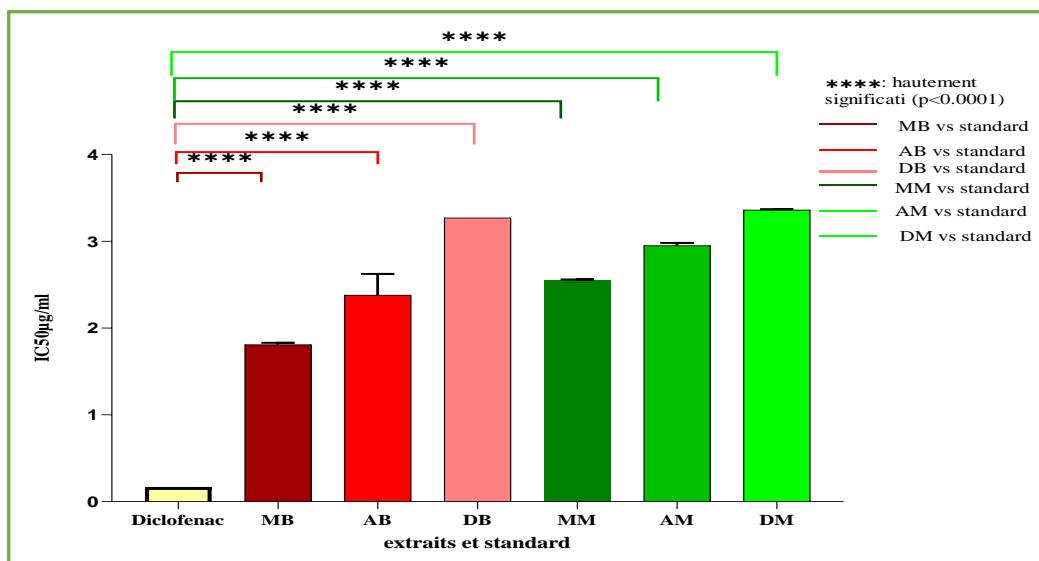


Figure 39.A. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ des extraits et standards de deux régions dans l'activité anti-inflammatoire.

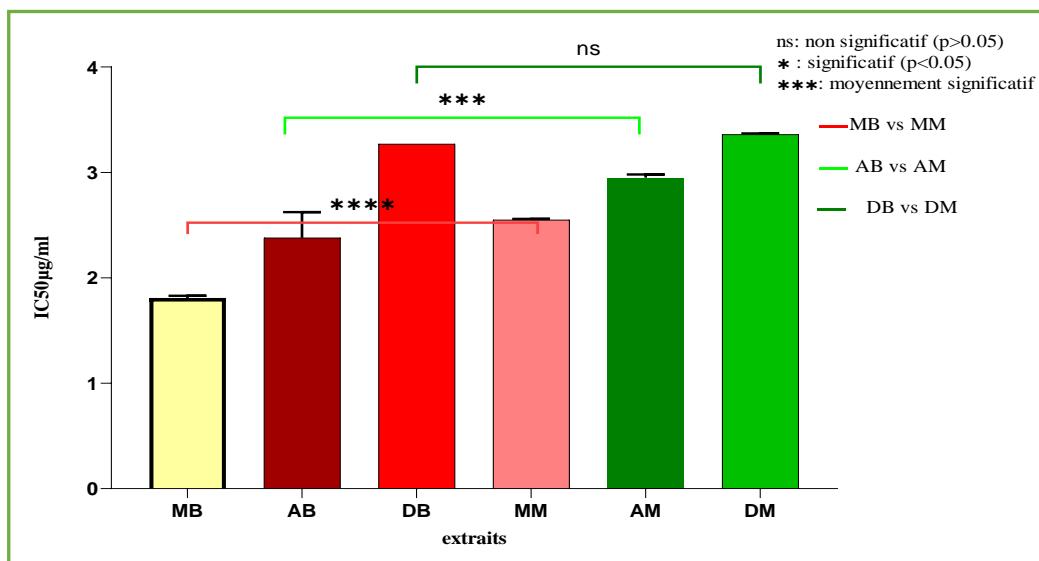


Figure 39.B. Résultats de l'analyse de la variance ANOVA des IC₅₀ des extraits de deux régions dans l'activité anti-inflammatoire.

■ Description des résultats

Pour évaluer l'effet anti-inflammatoire in vitro de *Spirulina platensis*. L'inhibition de la dénaturation de la BSA (sérum albumine bovine) par différents extraits a été mesurée.

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques (MB / MM) présentent l'activité inhibitrice la plus forte, avec des valeurs d'IC₅₀ de $1,81 \pm 0,0\text{mg/ml}$ pour MB $2,55 \pm 0,01\text{ mg/ml}$

pour MM, indiquant une inhibition significative de la dénaturation protéique. Les extraits acétate d'éthyle les suivent avec des IC₅₀ de 2,5±0,04 mg/ml AB et 2,95 ± 0,03mg/ml AM, démontrant une activité moins forte. Enfin, les extraits dichlorométhane affichent des valeurs d'IC₅₀ plus élevées (3,27 ± 0,00 mg/ml pour DB et 3,36± 0,01 mg/ml pour DM) (tableau 22).

■ Discussion des résultats

Les résultats indiquent que nos extraits possèdent un puissant effet inhibiteur de la dénaturation de la BSA, cependant il reste significativement moins important que celui du Diclofénac, un anti-inflammatoire de référence qui a exprimé une activité inhibitrice de (IC₅₀ = 0,17± 0,00 mg/ml), D'après le tableau de pourcentage d'inhibition de la dénaturation de BSA (**Annexes**), l'extrait méthanolique présente une activité d'inhibition maximale avec un pourcentage de MB=81,44% et MM = 79,89%. D'après une étude de **Rohit et al ., (2019)** il a été observé que l'extrait de méthanol présentait une activité anti-inflammatoire élevée (85,32±1,63%) suivis acétate éthyle (10,13±2,26%) pour 500 ug/ml. Aussi l'étude de **Dinesh Kumar et al., (2020)** montre la *Spiruline* présente une activité inhibition protéine à 43% a concentration 500 ug/ml et 47% selon **Parbakaran et al., (2019)** dans la même concentration.

L'effet anti-inflammatoire des extraits pourrait résulter de l'interaction de certains composants avec deux sites spécifiques sur des protéines comme l'albumine. Selon des recherches, les éléments issus des plantes médicinales traditionnelles ont un lien fort avec les liaisons riches en tyrosine, thréonine et lysine, ce qui leur permet de manifester leurs propriétés curatives en s'associant aux protéines plasmatiques (**Williams et al., 2008**).

De plus **Radhika et al., (2013)** ont été étudiés l'effet anti-inflammatoire de macro algues marines tels que *Padinater tastomatica*, *Sargas-sum wighti*, *gracilaria edulis* et *caulerpa racemosa* et ont exploré les réponse anti- inflammatoire minimale de *Spirulina platensis*.

D'après L'étude in vitro de **Mishra et al., (2013)** sur la *Spiruline*, l'activité anti-inflammatoire serait due à la C-phycocyanine (C-PC).

Les données indiquent clairement que nos extraits ont la capacité de maîtriser la dénaturation des protéines. L'action inhibitrice constatée sur la dénaturation de la BSA est sans doute attribuable à l'existence de différents composés bioactifs, comme les flavonoïdes et les pigments.

V. Activité -anti bactériennes

Nous avons réalisé un antibiogramme sur nos souches bactériennes (*E.coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) pour évaluer leur sensibilité à divers antibiotiques supposés ou établis. Le but de cette analyse est d'identifier précisément le spectre d'activité antibactérienne des principales familles d'antibiotiques sélectionnées contre ces trois agents

pathogènes et par la suite de privilégier l'antibiotique qui a démontré une activité élevée pour l'employer comme témoin positif dans le test d'activité antibactérienne de la *Spiruline* réalisée à diverses concentrations après une incubation de 24 heures. Les résultats consignés dans le tableau 23 signalent la présence (+) ou l'absence (-) d'activité antibactérienne.

Tableau 23. Activité antibactérienne des extraits de la *Spirulina platensis* à différentes concentrations et celle des antibiotiques utilisés contre les diverses souches bactériennes exprimée en termes de diamètre d'inhibition.

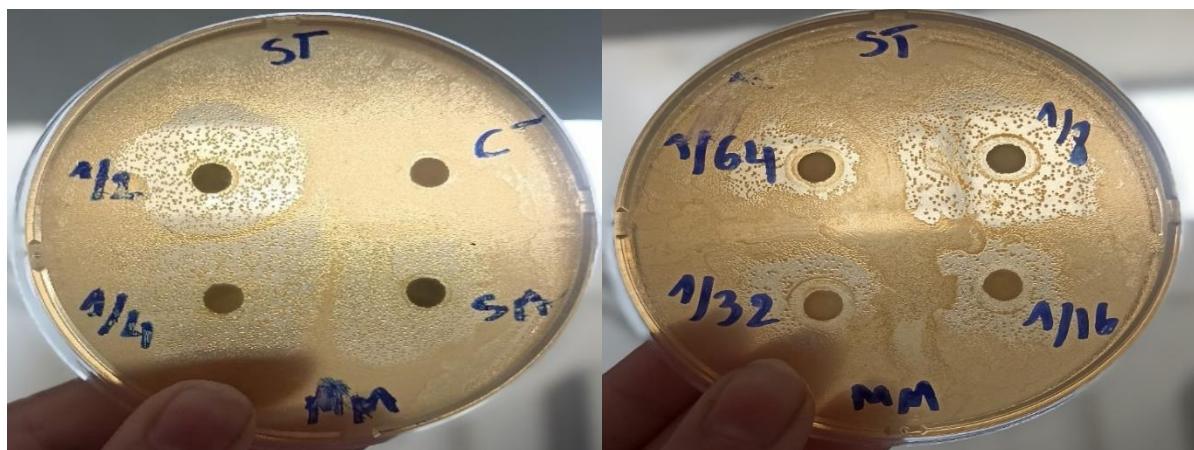
Extrait	Concentration	Xb			Xm		
		<i>E. Coli</i>	<i>Bacillus.S</i>	<i>S, aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Bacillus. S</i>	<i>S, aureus</i>
MeOH	100 mg/ml	-	-	-	-	-	31±0,14mm
	50 mg/ml	-	-	-	-	-	26±0,14 mm
	25mg/ml	-	-	-	-	-	36±0,14mm
	12,5mg/ml	31,5±0,21 mm	-	11,5±0,21 mm	-	-	31,5±0,21 mm
	6,25mg/ml	36±0,14 mm	-	12±0,28 mm	-	-	21,5±0,21 mm
	3,13mg/ml	32±0,21 mm	-	11,5±0,21 mm	-	-	12±0,14 mm
	1,56mg/ml	37±0,14 mm	-	12,5±0,35 mm	-	-	14,5±0,49 mm
	100mg/ml	-	-	-	-	-	-
AcOEt	50mg/ml	-	-	-	-	-	-
	25mg/ml	-	-	-	-	-	-
	12,5mg/ml	-	-	-	-	-	9±0,14 mm
	6,25mg/ml	-	-	-	-	-	9,5±0,21 mm
	3,13mg/ml	-	-	-	-	-	10±0,28 mm
	1,56mg/ml	-	-	-	-	-	10,5±0,35 mm
	100mg/ml	-	-	-	-	-	-

DCM	50mg/ml	-	-	-	-	-	-
	25mg/ml	-	-	-	-	-	-
	12,5mg/ml	-	-	-	-	-	-
	6,25mg/ml	-	-	-	-	-	-
	3,13mg/ml	-	-	-	-	-	-
	1,56mg/ml	-	-	-	-	-	-

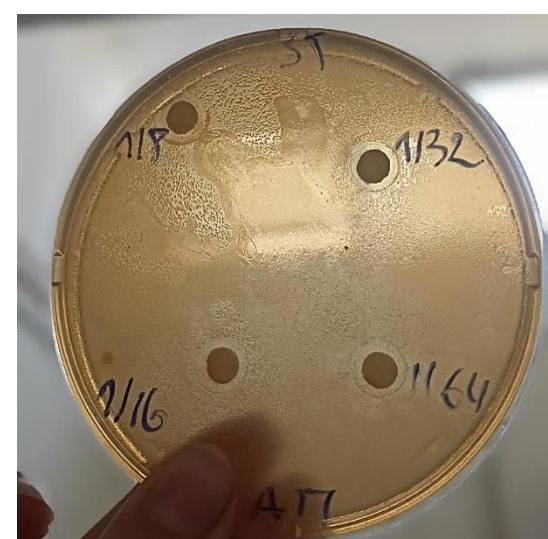
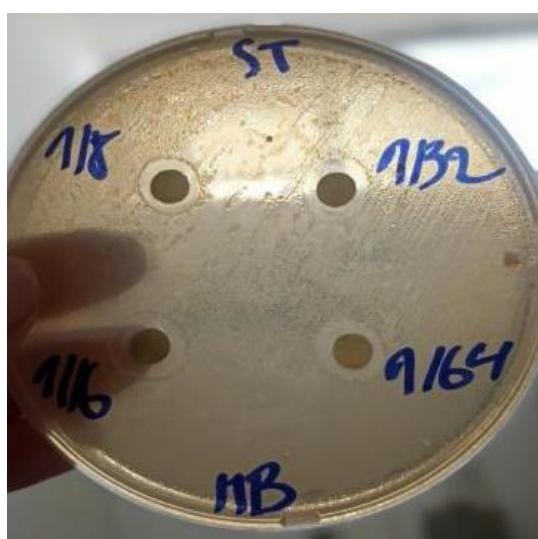
La sélection des antibiotiques (Ofloxacine, Fosfomycine, Pénicilline, Cefotaxime, Spiramycine et Clindamycine) a été effectuée en se basant sur les informations et expériences antérieures menées contre *E. coli* et *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, L'analyse de l'antibiogramme a révélé que toutes les souches testées étaient sensibles aux antibiotiques examinés, Cette sensibilité se manifeste par l'émergence de zones d'inhibition autour des disques.

Tableau 24. Activité antibactérienne des antibiotiques utilisés contre les diverses souches bactériennes exprimée en termes de diamètre d'inhibition.

Antibiotiques	Concentration	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Ofloxacine</i>	5 ug/ml	36±1,41mm	/	42,5±0,70 mm
<i>Pénicilline</i>	6 ug/ml	/	-	41,5±0,70mm
<i>Fosfomycine trométamol</i>	200 ug/ml	-	/	/
<i>Céfotaximine</i>	30 ug/ml	32,05±0,70mm	/	/
<i>Spiramycine</i>	10ug/ml	/	30,5±0,70mm	/
<i>Clindamycine</i>	2ug/ml	/	/	36,5±0,70mm



A. Activité antibactérienne des extraits méthanol de Xm contre *Staphylococcus aureus*



B. Activité antibactérienne des extraits méthanol de Xb contre *Staphylococcus aureus*.

C. Activité antibactérienne des extraits acétate éthyle de Xm contre *Staphylococcus aureus*.



D. Activité antibactérienne des extraits méthanol de Xb contre *Escherichia coli*.

Figure 40. Résultats de l'activité antibactérienne.

■ Description des résultats

La majorité des concentrations évaluées des extraits de Spiruline des deux régions n'ont pas démontré d'activité antibactérienne contre toutes les souches testées. En effet, seule une activité antibactérienne a été observée pour les extraits MB, MM et AM contre la souche *Staphylococcus aureus*. Ainsi que l'absence d'activité antibactérienne contre la souche *Bacillus subtilis* pour tous les extraits a été notée. On a observé également un effet antibactérien de l'extrait MB contre la souche *E. coli* ainsi, on a noté l'absence totale d'activité antibactérienne de l'extrait DCM contre toutes les souches bactériennes testées (Tableau 23).

■ Discussion des résultats

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre. Comme a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait possède une action bactériostatique ou bactéricide si son diamètre d'inhibition est supérieur à 8 mm (Goudjil, 2016)

Selon Ponce et al., (2003) L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et classé comme suit :

- Extrêmement sensible (+++): plus, de 20mm
- Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm
- Sensibles (+): 8 mm à 14mm
- Non sensibles (-) : moins de 8 mm

Les résultats de l'activité antibactérienne de la *Spiruline* s'accordent avec les travaux de recherche déjà effectués, On cite entre autres :

➤ Bactérie Gram positif

• *Staphylococcus aureus*

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique possède une activité antibactérienne significative contre *Staphylococcus aureus*, avec d'importantes zones d'inhibition observées pour toutes les concentrations testées de la *Spiruline* de Xm, ainsi que dans les faibles concentrations de la *spiruline* de Xb, l'extrait MB a montré un effet bactéricide avec une zone d'inhibition importante de $12,5 \pm 0,35$ mm (figure 40 b).

La plus grande zone d'inhibition mesurée de l'extrait MM a atteint $36 \pm 0,14$ mm (figure 40a). Ce qui est supérieur aux valeurs rapportées dans plusieurs études antérieures. En effet,

Usharani et al., (2015) ont indiqué une zone d'inhibition moyenne de $19 \pm 0,3$ mm. En outre **El-Monem et al., (2018)** ont observé une zone d'environ 16 mm, **Rao et al., (2010)** ont rapporté une zone de 15,20 mm et **Krishna et al., (2020)** ont noté une zone maximale de 30,63 mm pour l'extrait MeOH, tandis que l'extrait AcOEt atteignait 15,0 mm.

Sachant que l'effet de l'extrait MM est un effet bactériostatique, signifiant qu'il inhibe la croissance bactérienne pour quelque temps sans autant l'altérer.

Dans cette étude, l'extrait AcOEt a produit une zone d'inhibition de $10,5 \pm 0,35$ mm, possédant un effet bactéricide.

D'autres travaux, comme ceux de **Hamouda Ali et al., (2017)**, **Dahmouni et al., (2025)** et **Abdel-Moneim et al., (2021)**, ont rapporté des zones de $21 \pm 1,41$ mm, $13,55 \pm 0,80$ mm, et 18,3 mm respectivement pour l'extrait méthanolique. Ces résultats confirment le potentiel antibactérien élevé de cet extrait des deux souches de *Spirulina*, en particulier contre *Staphylococcus aureus*.

• *Bacillus subtilis*

Selon **El-Sheekh et al., (2014)** les extraits organiques de *Spirulina platensis*. Notamment acétate d'éthyle, ont montré une activité antibactérienne notable contre *Bacillus subtilis*, avec un diamètre de 19 mm. En revanche, aucune activité antibactérienne n'a été détectée contre *Bacillus subtilis* pour l'ensemble des extraits testés.

➤ Bactérie Gram négatif

• *Escherichia coli*

La plus grande zone d'inhibition obtenue pour l'extrait MB qui est de $37 \pm 0,14$ mm se traduit par un effet bactériostatique (figure 40 D). Par contre, la zone d'inhibition obtenue pour l'extrait AM est plus réduite, atteignant $10,5 \pm 0,35$ mm.

Des études menées sur l'extrait méthanolique de la *Spirulina* ont montré les zones d'inhibition suivantes : $10,80 \pm 0,80$ mm (**Dahmouni et al., 2025**), 10 mm (**el-Monem et al., 2018**) ainsi qu'une zone minimale d'inhibition de 6 mm a été obtenue par **Chakraborty et al., (2015)**, une zone d'inhibition de 16,6 mm (**Abdel moniem et al., 2021**) et une autre de $16 \pm 1,41$ mm (**hamouda Ali et al., 2017**) ont été notées, En plus d'un diamètre moyen égale à $18 \pm 0,5$ mm selon **Usharani et al., (2015)**.

Par contre les études de **Trabelsi et al., (2004)** et **Kaushik et Chauhan, (2008)** ont montré l'absence de l'activité antibactérienne de la souche *E. coli*. Aussi, D'après l'étude de l'extrait acétate d'éthyle de *Spirulina platensis* n'a présenté aucune activité antimicrobienne contre *Escherichia coli*, de ce fait aucune zone d'inhibition n'a été observée. En revanche, nos

résultats révèlent une activité notable de l'extrait AM, avec une zone d'inhibition significativement plus élevée, ce qui suggère une variation dans la composition bioactive selon l'origine de la spiruline ou les conditions d'extraction utilisées.

De plus, l'extrait méthanolique de la *Spirulina* s'est avéré le plus efficace contre les micro-organismes testés, ce qui est en concordance avec les résultats de **Gheda et Ismail, (2020)**. La forte activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique peut être attribuée à sa teneur élevée en composés phénoliques totaux.

D'après **Rojas et al., (1992)**, les plantes possèdent une multitude de composés dotés d'une activité antimicrobienne, parmi lesquels on retrouve les composés phénoliques et les flavonoïdes.

Les polyphénols exercent une activité antibactérienne multiple en ciblant divers mécanismes cellulaires bactériens. Ils peuvent inhiber la synthèse des acides nucléiques, perturbant ainsi la réPLICATION et la transcription de l'ADN, tout en altérant les fonctions de la membrane cytoplasmique, ce qui entraîne des dommages structurels et fonctionnels. Certains acides phénoliques, tel que l'acide caféïque, compromettent l'intégrité membranaire. Tandis que l'acide chlorogénique inhibe la formation de biofilms. Ces effets sont généralement plus marqués chez les bactéries à Gram négatif, en raison de leur structure membranaire particulière (**Coppo et Marchese, 2014 ; Shamsudin et al., 2022**),

Les flavonoïdes, sous-classe des polyphénols, modifient la perméabilité membranaire, entraînant des fuites de composants intracellulaires, et perturbent les bicouches phospholipidiques. Ils inhibent également des enzymes clés telles que la gyrase et la topoisomérase IV, se lient aux protéines pariétales, interfèrent avec les ribosomes, et induisent un stress oxydatif. De plus, ils perturbent la chaîne respiratoire bactérienne, inhibent la synthèse d'ATP et empêchent la formation de biofilms. L'efficacité antibactérienne de ces composés dépend de la nature et de la position de leurs groupes fonctionnels (hydroxyle, méthyle, acétyle, sucre, etc...) qui peuvent moduler positivement ou négativement leur activité. Notamment, la présence d'une double liaison dans la structure flavonoïdiques semble renforcer leur effet contre les bactéries Gram positives (**Coppo et Marchese, 2014 ; Shamsudin et al., 2022**).

Conclusion et perspectives

Ce travail a porté sur l'évaluation des effets biologiques des composés bioactifs présents dans deux espèces d'*Arthrospira platensis*, l'une d'origine malaisienne et l'autre algérienne. Dans ce cadre, des extraits ont été obtenus par macération, afin d'extraire des métabolites secondaires ainsi que l'évaluation de leurs activités biologiques in vitro, a savoir : antioxydante, antibactérienne, antidiabétique et anti-inflammatoire.

Le screening phytochimique et la chromatographie sur couche mince (CCM) ont permis d'identifier et de caractériser efficacement les principaux pigments (chlorophylle, phycocyanine et caroténoïde) ainsi que métabolites secondaires comme les flavonoïdes, les terpénoïdes, les tanins ...etc . Présents dans les deux souches *Arthrospira platensis*. Ces techniques, simples et rapides, ont démontré la richesse de cette cyanobactérie en substances bioactives, justifiant son intérêt en nutrition, cosmétique et pharmacologie.

Les analyses phytochimiques ont révélé que les deux souches présentent des teneurs intéressantes en composés bioactifs. Les extraits méthanoliques de chacune ont montré une forte concentration en polyphénols totaux, avec des valeurs très proches. Par contre, la teneur en flavonoïdes s'est révélée plus élevée dans l'extrait acétate d'éthyle de la souche algérienne.

L'évaluation des activités biologiques a permis de mettre en évidence les résultats suivants :

- Une activité antioxydante marquée pour les deux souches, avec une supériorité modérée pour la spiruline algérienne. Toutefois, aucune activité n'a été détectée chez la souche malaisienne par la méthode FRAP.
- Une activité antidiabétique significative, traduite par l'inhibition de l'alpha-amylase, plus importante chez la souche algérienne.
- Une activité anti-inflammatoire modérée, observée pour les deux souches avec des effets comparables.
- Une activité antibactérienne presque inexiste pour l'ensemble des extraits et toutes les souches bactériennes testées, à l'exception des extraits méthanoliques, qui ont montré une légère activité contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et l'extrait acétate éthyle sauf contre *Staphylococcus aureus*.

À la lumière des résultats obtenus, plusieurs orientations futures peuvent être menées pour enrichir et développer cette étude, dans ce contexte, nous envisageons de :

- Mener des essais in vivo pour évaluer l'impact des extraits sur le stress oxydatif, à travers la mesure de l'activité d'enzymes antioxydantes

- Explorer différentes techniques d'extraction, telles que les extractions vertes dans l'objectif d'optimiser à la fois la quantité et la qualité des composés obtenus.
- Examiner d'autres activités biologiques potentielles comme les effets antitumoraux, anticancéreux ou encore anti-carcinogènes.
- Valider les effets observés *in vitro* à travers des études *in vivo*, pour confirmer leur efficacité dans des conditions biologiques réelles.

Références bibliographiques

« A »

- **Abe, E., Delyle, S. G., & Alvarez, J. C. (2010)** Liquid-liquid extraction : Theory, applications and difficulties. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), 51–59.
- **Abedini A. (2013)** Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat : Sciences pharmaceutiques. Lille : Université du Droit et de la Santé - Lille II, 259 p.
- **Amine Ouaket., Anas Chraka., Ihssane Raissouni., Mohamed Amin El Amrani., Mohamed Berrada., Noureddine Knouzi. (2022)** Synthesis, spectroscopic ($^{13}\text{C}/^1\text{H}$ -NMR, FT-IR) investigations, quantum chemical modelling (FMO, MEP, NBO analysis), and antioxidant activity of the bis-benzimidazole molecule.
- **AlFadhly, N. K. Z., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., & Cacciola, F. (2022)** Tendencies affecting the growth and cultivation of genus Spirulina: An investigative review on current trends. *Plants*, 11(22), 3063. <https://doi.org/10.3390/plants11223063>
- **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).
- **Arif T., Bhosale JD., Kumar N., Mandal TK., Bendre RS., Lavekar S., Dabur R. (2009)** Natural products- antifungal agents derived from plants. *J Asian Nat Prod Res*. 11, 7 : 626 638.
- **Arrignon, J. (2002)** L'aquaculture de A à Z. TEC et DOC.
- **Antonio Piccolo;** Expert en spiruline, consultant Smart Fish Chris Short: Expert Commerce, Programme Smart Fish.
- **Atta, A., & Alkofahi, A. (1998)** Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2), 117–124.
- **Azzi, R. (2013)** Contribution à l'étude des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien : Enquête ethnopharmacologique et analyse pharmaco-toxicologique du figuier (*Ficus carica*) et de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar [Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaïd].
- **Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg T. (1996)** Advances in the development of pharmaceutical antioxidant drug. 1996. *Food Chemistry*. 28: 65-180.

« B »

- **Batello, C., Marzot, M., Touré, A. H., & FAO. (2005)** Futur est un ancien lac : Savoirs traditionnels, biodiversité et ressources génétiques pour l'agriculture et l'alimentation dans les écosystèmes du bas du lac Tchad. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- **Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966)** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4_ts), 493–496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.
- **Bougoffa, S., & Hamidi, A. (2020)** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait de la spiruline (*Spirulina platensis*) sur différentes souches pathogènes dans la région de Ouargla [Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla].
- **Boutellis, D. J. (2014)** Étude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare L.* [Thèse de doctorat, Université de Badji Mokhtar de Annaba].
- **Barralon E. (2016)** Le manuel du plongeur biologiste les végétaux. Association Flabelline Plongée, 37P.
- **Bernard C. (2014)** Les cyanobactéries et leurs toxines. Rev Francoph Lab :53–68.
- **Bouchouka, E. (2016)** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de Doctorat, Université de Badji Mokhtar –Annaba.p126.
- **Blois, M.S. (1958)** Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 :1199-1200.
- **Bruneton J. (1993)** « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ». 2eme ed ; université de paris-sud, France, 389-617.
- **Bortolomeazzi R, Sebastianutto N, Toniolo R, Pizzariello A. (2007)** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. Food Chem, 100, 481–489.
- **Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I. (2012)** Etude de l'Extraction de composés Phénoliques à partir de Pellicules d'Arachide (*Arachishypogaea L.*). Revue de génie industriel, 7 : 35-45.
- **Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2012)** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. Nature & Technologie, (9), 14 – 19.

- **Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y. (2007)** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in Panax ginseng Bioreactor RootSuspension Cultures. 2007. Molecules. 12 : 607 -621.
- **Buchanan. (2015)** Métabolites secondaires [en ligne]. Disponible sur <http://www.Biologie.Univ-mrs.Fr/upload/p222/2Metabolite%20secondaire>.

« C »

- **Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008)** La spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? Institut de Recherche pour le Développement, 67.
- **Calsamiglia S., Busquet M., Cardozop W., Castillejos L., Ferret A. (2007)** Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of dairy science. Vol. (90) : 2580–2595
- **Casal A. (2012, 2024)** La chlorophylle (pigment). (Spirulinefrance.Fr).
- **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.
- **Courrier, L. (s. d.)** Le courrier. <http://lecourrier-dalgerie.com/ouargla-vers-le-developpement-de-la-culture-de-la-spiruline/>
- **Cowan M. (1999)** Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12(4) :564-570.
- **Cruchot H. (2008)** La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Université de France-Comite.
- **Clement G. (1975)** Production Et Constituants Caractéristiques Des
- "Algues" Spirulina Platensis Et Maxima". Paper Presented At The Annales De La Nutrition Et De L'alimentation.

« D »

- **Doumenge, F., Durand-Chastel, H., & Toulemont, A. (1993)** Spirulina, algue of life. Musée Océanographique de Monaco.
- **Delpeuch F., Joseph A. et Cavelier C. (1975)** Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (*Oscillatoris platensis*) chez quelques populations du Kanem (Tchad). Annales de la Nutrition et de l'Alimentation, n° 29, pp. 497-515.
- **Diraman, H., E. Koru, et H. Dibeklioglu. (2009)** "Fatty acid profile of Spirulina platensis used as a Food supplement." Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh 61 (2) :134-142.

- **Diana Rakhmawaty Eddy., Dian Nursyamsiah., Muhamad Diki Permana., Solihudin, Atiek Rostika Noviyanti and Iman Rahayu. (2022)** Green Production of Zero-Valent Iron (ZVI) Using Tea-Leaf Extracts for Fenton Degradation of Mixed Rhodamine B and Methyl Orange Dyes.

« E »

- **El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018)** Screening phytochimique d'une plante médicinale: *Mentha spicata L.* American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, 7(4), 226–233.

« F »

- **Falquet, J., et J.P. Hurni. (2006)**"Spiruline - Aspects nutritionnels." : Antenna Technologies NIA.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008)** Phenolic composition of *Cynara cardunculus L.* organs, and their biologicalactivities. 2008. C. R. Biologies. 331: 372 -379.
- **Fontanay, S. (2012)** Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines : Caractérisation physicochimique et activités biologiques [Thèse de doctorat, Université de Lorraine].
- **Fox RD. (1999)** La spiruline : technique, pratique et promesse. Aix-en-Provence : Edisud.

« G »

- **Gantet, P., Tandart V., Verger A. (1999)** Les phycophytes : cours de biologie, les phycophytes, 25p.
- **Gershwin ME., Belay A. (2009)** « Spirulina in Human Nutrition and Health. » Journal of Applied Phycology 21, n° 6: 747-748.
- **Gershwin, M. E., et A. Belay. (2008)** "Spirulina in human nutrition and health." CRC Press :328 p.
- **Ghnimi, W. (2015)** Étude phytochimique des extraits de deux Euphorbiaceae : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Évaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse de doctorat, Universite de lorraine, France.
- **Girardin-Andréani. (2005)** « C. Spiruline : Système Sanguine, Système Immunitaire et Cancer. Phytother, pp.158-161.

- **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.
- **Guignard, J. L., Cosson, L., & Henry, M. (1985)** Abrégé de phytochimie. Masson.
- **Gutierrez-Salmean G, Fabila-Castillo L, Chamorro-Cevallos G. (2015)** Nutritional and Toxicological Aspects of Spirulina (Arthospira). Nutr Hosp ;32(1) :34-40.
- **Glazer, A.n. (1994)** phycobiliproteine -a family of vurable, widely used fluorophores
- **Gomez-Caravaca A.M., Gomez - Romero M., Arraez - Roman D., Segura - Carretero A., Fernandez- Gutierrez A. (2006)** Advances in the analysis of phenolic compound in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41: 1220 -1234.

« H »

- **Habibur, R., Eswaraiah, M. C., et Dutta, A. M. (2015)** In-vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic Activity of Oryza sativa Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 15. 115-121.
- **Heller W., Geiger H. (1988)** The Flavonoids Advances in Research since 1980, Harborne. J.B., Eds, Chapman and Hall, London.
- **Huang, W., Zhong, C. Y., & Zhang, Y. (2009)** Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: Potential use for cancer prevention. Nutrition and Cancer, 62(1), 1–20.
- **Hubert, J. (2006)** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja : étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).
- **Humphrey, A.m. (2004)** chlorophyll as a color and functional ingredient journal of food science ,69(5), C422-425
- **Hu, S.; Fan, X.; Qi, P.; Zhang, X. (2019)** Identification of anti-diabetes peptides from Spirulina platensis. J. Funct. Foods, 56, 333–341. [CrossRef]
- **Hennebelle T, S. Sahpaz, F. Bailleu. (2004)** : Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, Phytothérapie. Numéro 1 : pp4-5

« J »

- **Jassey, Y., J. P. Berlot, et C. Baron. (1971)** [Comparative study of the nucleic acids of 2 species of Spirulina: Spirulina platensis Geitler and Spirulina maxima Geitler]." Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Academie des sciences. Serie D: Sciences naturelles 273 (23) :2365-8.
- **Jayaprakasha, G.K., Girennavar, B and Patil, B.S. (2008)** Antioxidant capacity of pummel and navel orange: Extraction efficiency of solvents in sequence. LWT, 41 :376-384.
- **Jiang P., Meng J., Zhang L., Huang L., Wei L., Bai Y., Liu X., Li S. (2022)** Purification and anti-inflammatory effect of selenium-containing protein fraction from selenium-enriched Spirulina platensis. Food Biosci ;45 :101469. Doi : 10.1016/j.fbio.2021.101469. [[DOI](#)] [[Google Scholar](#)].
- **Jordan J P. (1999)** Cultivez votre spiruline : manuel de culture artisanal. Publication Antenna Technologies.
- **Jourdan, J. P. (2006)**. Cultivez votre spiruline (146 p.). Antenna Technologie. <http://www.antenna.ch/documents/manuelJourdan2061.pdf>.
- **Jourdan, J. P. (2011)** Cultivez votre spiruline : Manuel de culture artisanale de spiruline (223 p.).
- **Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J. H. (2019)** Spirulina platensis, à super Food? Journal of Cellular Biotechnology, 5(1), 43-54.

« K »

- **Kambou, S. P., Camara-Cissé, M., Kolia, K., Adeoti, M. F., & Koffi, K. G. (2018)** Paramètres physico-chimiques et métabolites secondaires de Spirulina platensis (Oscillatoriaceae), une algue produite et consommée en Côte d'Ivoire. Revue Bio-Africa, 17, 25–33.
- **Kannan, M., Pushparaj, A., Dheeba, B., Nageshwari, K., & Kannan, K. (2014)** Phytochemical screening and antioxidant activity of marine algae Gracilaria corticata and Spirulina platensis. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(11), 312–338.
- **Kone, D. (2009)** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : Extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols [Thèse de doctorat, Université de Bamako].

- **Karkos, P. D., Leong, S. C., Karkos, C. D., Sivaji, N., & Assimakopoulos, D. A. (2011)** Spirulina in clinical practice: evidence-based human applications. Evidence-based complementary and alternative medicine: ECAM, 2011, 531053.
- <https://doi.org/10.1093/ecam/nen058>
- **Kwei, C. K., D. Lewis, K. King, W. Donohue, et B. A. Neilan. (2011)**"Molecular classification of commercial Spirulina strains and identification of their sulfolipid biosynthesis genes." Journal of Microbiology and Biotechnology 21 (4) :359-365. Doi: 10.4014/jmb.1008.08016.
- **Kaushik, p., Chauhan, a. (2008)** In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of Spirulina platensis. Indian J Microbiol, 48, 348-352.
- **Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Ogugbuaja, V. O. (2004)** Identification of active principles of M. balsamina (Balsam Apple) leaf extract. J Med Sci, 4(3), 179-182. Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout Par BOUKRI Nour El Houda Le : 08 / 06 /2014.
- **Kumaran and R. Joel Karunakaran. (2007)** in vitro antioxydant activities of methanol extracts of five phyllanthus species from indian, LWT40 :344_352.
- **Kim C.J. (2018)**. Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. Journal of Microbiology, Vol. 54(12), pp. 853-866.

« L »

- **La P'tite Spiru. (2024, septembre 30)** La spiruline. <https://www.laptitespiru.fr/spiruline/>
- **Langlade M.J, Alliod.R, Charpy.L.(2010)** Utilisations de la Spiruline autrement que pour traiter la malnutrition. Marseille : URCYROCO, IRD, COM.
- **Laurenkenze. (2009)** Groupe CRE Laurentides 2009.Les algues.2009. <http://www.troussedeslacs-.org/pdf/fiches.pdf>.
- **Lecasble. (2012)** Le marc de café comme source atypique de tanins condensés dans le contrôle intégré des nématodes gastro-intestinaux chez les petits ruminants du Yucatan, Mexique. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. École Nationale Vétérinaire d'Alfort : 32.
- **Le Bail, D. (2014)** Les compléments alimentaires qui guérissent. Éditions Mosaique Santé. <http://www.narayana-verlag.com/homeopathy/pdf/Les-complementsalimentaires-qui-guerissent-Didier>
- **Levine. S.G. (1990)** Identification of Unknowns by Melting Point and Thin-Layer Chromatography in Combination - J. Chem. Ed, 67, p972.

- **Leonard J. et Compere P. (1967)** Spirulina platensis (Gom) Geitler, algue bleue de grande valeur alimentaire par sa richesse en protéines. ; vol. 37, n°01, p.23.
- **Lupatini AL., Colla LM., Canan C., Colla E. (2017)** Potentiel application of microalga Spirulina platensis as a protein source. J SCI Food Agric ;97 :724–32.
- **Lapornik, B., Prošek, M., Et Wondra, A. G. (2005)** Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of food engineering, 71 :2, 214 222.

« M »

- **Manet, A. (2016)** La spiruline : Indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine [Thèse de doctorat, Université Grenoble Alpes].
- **Mani, U. V., Sangeeta, S., Iyer, U. M., & Subramanian, S. R. (1996)** Studies on the effect of Spirulina supplementation in control of diabetes mellitus. In Cyanobacterial Biotechnology: Proceedings of the International Symposium. Oxford & IBH Publishing.
- **Manoj G, Venkataraman L.V, Srinivas, L. (1992)** Antioxidant properties of spirulina (Spirulina platensis). Seshadri and Bai Spirulina MCRC.
- **Manchado, P. S., & Cheynier, V. (2006)** Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier.
- **Melle Louvel Soizic. (2019)** La spiruline : Intérêts humanitaires et thérapeutiques, thèse doctorat, la Faculté de pharmacie de Marseille.
- **Macheix, J.J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005)** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes.
- **Merghem R., Jay M., Viricel Viricel M.R., Bayet C., and Voirin B. (1995)** Five 8- C-benzylated flavonoids from Thymus hirtus (Labiatea). Phytochemistry. Vol (38), p: 637-640.
- **Miller, N.J., Diplock, A.T., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. (1993)** A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science.84:407 412.
- **Müller. Malikand. (2016)** Phytochemicals as treatment for allergic asthma: Therapeutic effects and mechanisms of action
- **Mizushima, Y., & Kobayashi, M. (1968)** Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 20, 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1968.tb09718.x>
- **Morgan Proy. (2019)** La spiruline et son utilisation à l'officine, thèse doctorat, Université De Picardie Jules Verne.

- **Munawaroh, H.S.H. ; Gumilar, G.G. ; Nurjanah, F. ; Yuliani, G. ; Aisyah, S. ; Kurnia, D. ; Wulandari, A.P. ; Kurniawan, I. ; Ningrum, A. ; Koyande, A.K. (2020)** et al. In-vitro molecular docking analysis of microalgae extracted phycocyanin as an anti-diabetic candidate. Biochem. Eng. J.161, 107666. [CrossRef]
- **Morris, Garrett M., et al., (2009)**"AutoDock4 and Auto DockTools 4: Automated Docking with selective receptor flexibility." Journal of computational chemistry 30.16 (2009) : 2785-2791.
- **Martin S., Andriantsitohaina R. (2002)** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. 2002. Annales cardiologie et d'angéiologie. 51 :304-315.

« N »

- **Najjaa, N., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Emna, A., Neffati, M. (2011)** Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre Allium Alliumroseum L. et Allium ampeloprasum L, Acta Bot. Gallica, 158(1), 111-123.
- **N. Boizot et J. P. Charpentier. (2006)** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, INRA, numéro spécial.
- **Niangara, U. F. (2017)** Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : Eclairage et Estimation de la Biomasse, Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse, Université Toulouse 3, Paul Sabatier, 39 p.

« O »

- **Oyaizu, M. (1986)** Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics. 44, 307-315.

« P »

- **Patel S, Goyal A. (2013)** Current and prospective insights on food and pharmaceutical applications of spirulina. Curr. Trends Biotechnol. Pharm. p.681-95.
- **Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., &Codina, C. (2002)** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(23), 6882-6890.
- **P. W. Atkins. (1998)** « les concepts de chimie physique », Paris.

- **Prior, R.L.; Wu, X.; Schaich, K. (2005)** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* ;53, 4290–4302.
- **Pawel k zarzycki et al. J AOAC. (2008)** sep-oct. Evaluation of the water and organic liquids extraction efficiency of spirulina maxima dyes using thermostated micro thin-layer chromatography

« Q »

- **Quillet, M. (1975)** "Carbohydrates synthesized by the spirulines." *Annales de la nutrition et de l'alimentation* 29 (6) :553-561.

« R »

- **Reviers, B. (2002)** Biologie et phylogénie des algues. Belin.
- **Re, R., Pelligrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999)** Antioxidnt activity applying an improved ABTS radical cation decolouration assay. *Free Radical Biology and Medicine.* 26 :1231-1237.
- **Ribéreau-Gayon, P. (1968)** Notions générales sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed Dunod, p :1-27.
- **R.E. Lee. (1998)** Phycology; **F.E. Round. (1981)** Ecology of Algae.
- **Roux, D., & Catier, O. (2007)** Botanique, pharmacognosie, phytothérapie (3e éd.). Wolters Kluwer.
- **Roger P.A. (2006)** Les cyanobactéries : définition. Disponible sur : <http://pagesperso-orange.fr/cyanobacteries/pages/Introduction/definition.htm> 2006
- **Roginsky, V., Lissi, E.A. (2005)** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry.* 92, 235-254

« S »

- **Sandrine Garon-Lardier. (2004)** Étude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge Asparagopsis armata (Bonnemaisoniales), Thèse de Doctorat, Université De Bretagne Occidentale, PP .04-06.
- **Santillan C. (1982)** Mass production of spirulina. *Experientia* 38 (1) :40-43. Doi : 10.1007/BF01944524.
- **Sall M.G, Dankoko B., Badiane M, Ehua E. et Kuakuwin N. (1999)** « La spiruline : une source alimentaire à promouvoir. » *Médecine d'Afrique Noire* 3, n° 46: 2.

- **Savithramma, N., Rao, M. L., & Suhrulatha, D. (2011)** Screening of medicinal plants for secondary metabolites. Middle-East Journal of Scientific Research, 8(3), 579584.
- **Samejo, M. Q., Sumbul, A., Shah, S., Memon, S. B., & Chundrigar, S. (2013)** Phytochemical screening of Tamarix dioica Roxb. Ex Roch. Journal of pharmacy research, 7(2), 181-183.
- **Seladji, M; Belmekki, N; Azmani, I; Bouziani, I; Bendimerad, N. (2013)** Phytochemical Screening of two Algerian medicinal plants, University of Tlemcen- Algeria.
- **Sguera S. (2008)** Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Thèse docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, Faculté de Pharmacie, p 15.
- **Schmitz T. (2014)** Les Incroyables Propriétés de la Phycocyanine, Principe de santé, Revue N° 72.
- **Shao, W., Ebaid, R., El-Sheekh, M., Abomohra, A., & Eladel, H. (2019)** Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of Spirulina (Arthrospira): An overview. Grasas y Aceites, 70(1), 292.
- **Shankar Mane, R., & Chakraborty, B. (2018)** Phytochemical screening of Spirulina platensis extracts from Rankala Lake, Kolhapur, India. Journal of Algal Biomass Utilization, 9(4), 38–41.
- **Sili, C., Torzillo, G., & Vonshak, A. (2012)** Arthrospira (Spirulina). In Ecology of Cyanobacteria II (pp. 677–705).
- **Smith, W. L., DeWitt, D. L., & Garavito, R. M. (2000)** Cyclooxygenases: Structural, cellular, and molecular biology. Annual Review of Biochemistry, 69(1), 145–182.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.145>
- **Su X., Duan J., Jian Y., Shi J., Kakuda Y. (2006)** Effect of soaking conditions on the antioxidant potentials of Oolong tea's food composition Anal. 19: 348- 353.
- **Singleton, V.L., Rossi, J.A. (1965)** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic 16 :144–158.
- **Soizic L. (2019)** La spiruline : Intérêts humanitaires et thérapeutiques. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université d'Aix-Marseille. France.95p.
- **Sumi Y. (2009)** Microalgae pioneering the future-application and utilization. NISTEP Science & Technology Foresight Center.

« T »

- **Trease E et Evans W.C. (1987)** Pharmacognosy Billiaire. Ed. Tindall London. 13: P 61- 62.
- **Teuscher. E, Anton. R, Lobstein. (2005)** Plantes aromatiques : Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec et doc, Paris.

« V »

- **Vidal J.L. (2008)** Spiruline l'algue bleue de santé et de prévention. Paris: Ed. Du Dauphin; 2008.
- **Vonshak, A. (1997)** *Spirulina platensis (Arthospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. Taylor & Francis.

« W »

- **Watanabe F. (2007)** "Vitamin B12 sources and bioavailability." *Experimental Biology and Medicine* 232 (10) :1266-1274. Doi: 10.3181/0703-MR-67.
- **Wagner, H., & Bladt, S. (2001)** *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. Berlin: Springer. 352 p. 2nd edition.
- **Whittle, B. A. (1964)** The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 22(2), 246–253.
- **Wrolstad, R.E. (2004)** Anthocyanin pigments -bioactivity and coloring properites. *Journal of Food science*, *69*(5), C419-C425.
- **Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. W. (2008)** Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163–175.
- **Won Yun K., Maun A. (2007)** Effects of the aqueous extract fromartemisia campestris ssp. Caudata on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses, *Journal of Plant Biology*.50, 358-361.
- **Wojdylo A., Oszmian'ski J., Czemerys R. (2007)** Antioxidant activity and phenolic Compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry* 105: 940–949.

« Y »

- **Yang, X.W., Huang, M.Z., Jin, Y.S., Sun, L.N., Song, Y., Chen, H.S. (2012)** Phenolics from Bidens bipinnata and their amylase inhibitory properties. *Fitoterapia.* 83, 1169-1175.
- **Yan Danielle and Kevin Robards Charles. (1998)** Phenolic compounds in olives, Charles Sturt University Riverina, *Analyst*, Vol 123: pp31-35.

« Z »

- **Zenk, H., & Juenger, M. (2007)** Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68, 2757–2772.
- **Ziegler, J., & Facchini, P. J. (2008)** Alkaloid biosynthesis: Metabolism and trafficking. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 735–769.
- **ZovkoCončić M, Kremer D, Karlović K, Kosalec I. (2010)** Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of Berberisvulgaris L. and BerberiscoaticaHorvat. *Food Chem Toxicol* ;48 :2176–2180.
- **Zhao H., Dong J., Lu J., Chen J., Li Y., shan L., Lin Y., Fan W., Gu G. (2006)** Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity And Selectivity for free phenolic compounds in barley *Hordeum vulgare* L. *J. Agric. Food Chemistry* 54: 7277–7286.
- **Zhao, C.; Wu, Y.; Yang, C.; Liu, B.; Huang, Y. (2015)** Hypotensive, hypoglycaemic and hypolipidemic effects of bioactive compounds from microalgae and marine. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50, 1705–1717.

Annexes

Annexe N° 01

- Rendement des extraits**

Tableau 1. Rendement d'extraction et caractères de chaque extrait

Souche	Malaisienne			Algérienne		
	DCM M	MeOH M	AcOEt M	DCM A	MeOH A	AcOEt A
Couleur	Vert foncé	Vert foncé	Vert foncé	Vert clair	Vert clair	Vert clair
Poids extract en sac (g)	1g	2g	0.4g	0.63g	3.8g	0.5g
Rendement	3.33%	6.66%	1.3%	3.15%	19%	2.5%

Annexe N°02

I. Solutions chimiques des screening phytochimique

I.1. Préparation de chlorure ferrique (10%)

- Chlorure de ferrique 10g
- Eau distillée 100ml

I.2. Préparation de chlorure ferrique (1%)

- Chlorure de ferrique 1g
- Eau distillée 10ml

I.3. Préparation d'hydroxyde sodium (10%)

- Hydroxyde sodium 10g
- Eau distillée 100ml

I.3. Préparation liqueur de Fehling

- **Liqueur Fehling A**
 - Sulfate de cuivre..... 105g
 - Acide sulfurique 15ml
 - Eau distillée..... 31
- **Liqueur Fehling B**
 - Tartrate double du sodium et potassium 60g
 - NaOH 450g
 - Eau distillée 31

I.4. Préparation d'hydroxyde ammoniaque (10%)

- Hydroxyde ammoniaque 10g
- Eau distillée 100ml

II. Préparation des révélateurs

II.1. Préparation de KOH à 10 %

- D'hydroxyde de potassium 10g
- Éthanol 100ml

II.2. Préparation de vanilline sulfurique

A : 1%. 1 g de vanilline dissous dans 100 ml d'éthanol.

B : 10%. 1 ml d'H₂SO₄ mélange avec 9 ml d'éthanol.

Ensuite, 10 ml de chaque solution ont été pulvérisés sur la plaque, puis cette dernière a été Placée dans l'étuve à 110°C pendant 10 minutes.

Annexe N° 03

III. Détermination du total en polyphénols et flavonoïdes

III.1. Préparation de la solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5%

- Carbonate de sodium anhydre (7,5%) 7,5 g
- Eau distillée 100ml

III.2. Préparation de Folin Ciocalteu (FCR)

- FCR concentré (2M) 1ml
- Eau distillée 9ml

III.3. Préparation de la solution Le chlorure d'aluminium (AlCl₃) 2%

- Chlorure d'aluminium.... 2g
- Méthanol 100ml

Annexe N° 04

IV. Réactifs des activités biologique

IV.1. Préparation de DPPH

- DPPH 6mg
- Méthanol 100 ml

IV.2. Préparation de ABTS

- ABTS 19,2 mg
- Eau distillée 5ml
- K₂S₂O₈ 3,3mg
- Eau distillée5ml

IV.3. Préparation solution de FRAP

IV.3.1. Préparation de Ferrycianide de potassium (1%)

- K₃Fe (CN)₆..... 1g
- Eau distille..... 100ml

IV.3.2. Préparation d'acide trichloracétique (10%)

- TCA 1g
- Eau distille..... 10 ml

IV.3.3. Préparation de chlorure ferrique (0,1%)

- Chlorure de ferrique 0,1g
- Eau distillée 10ml

I. Préparation des solutions pour activité enzymatique

V.1. Préparation de α -amylase 1U

- L'enzyme..... 1ml
- Tampon phosphate (pH 6,9) 9ml

V.2. Préparation de Amidon 0,1%

- Amidon..... 0,1g
- Eau distille 100ml

V.3. Préparation de Solution IKI

- KI..... 3g
- H₂O 100ml
- Iodine (5mM) 127 mg

V.4. Préparation de Acide hydrochlorique (1M)

- HCl 4.17 ml
- Eau distillée 45.83 ml

VI. Préparation des solutions pour activité anti inflammatoire

VI.1. Préparation des blancs

A- Pour claque concentration d'extrait

- Extrait..... 1ml
- Tris HCL 1ml

B- Pour blanc BSA

- BSA..... 1 ml
- Bi distillé 1ml

VI.2. Préparation de la solution BSA 0,2% :

- BSA..... 0.2 g
- Tampon Tris -HCL 100 ml

VI.3. Préparation tampon Tris-HCL PH 6.6

- Tris 1,2144 mg
- Bi distillé..... 200ml
- HCl..... quelque gout

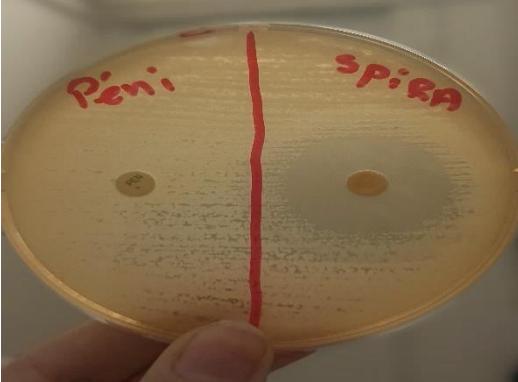
Tableau 2. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'activité Anti-inflammatoire présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC_{50} Calculées pour chaque extrait testé.

Extrait	Inhibition %				
	1,25 mg	2,5 mg	5 mg	10 mg	IC_{50} mg/ml
ACB	35,78±0,04	51,53±0,07	74,62±0,08	80,98±0,04	2,5±0,04
MB	41,24±0,04	61,78±0,04	75,07±0,12	81,44±0,04	1,81±0,02
DB	21,87±0,07	46,53±0,13	68,87±0,07	77,64±0,21	3,27±0,00
ACM	33,22±0,04	43,73±0,20	72,56±0,04	76,27±0,52	2,95±0,03
MM	35,89±0,04	50,93±0,12	74,51±0,04	79,89±0,14	2,55±0,01
DM	23,00±0,18	43,60±0,07	67,73±0,13	75,13±0,01	3,36±0,01
	0,0625 mg	0,125 mg	0,25 mg	0,5 mg	IC_{50} mg/ml
Diclofénac	17,64±0,15	49,80±0,18	63,49±0,15	76,98±0,10	0.17±0,03

Tableau 3. Un récapitulatif des résultats de l'étude de l'activité inhibitrice de l'alpha-amylase présente les pourcentages d'inhibition obtenus ainsi que les valeurs d' IC_{50} calculées pour chaque extrait testé.

Extrait	Inhibition %							
	6.25 µg	12.5 µg	25µg	50µg	100µg	200µg	400 µg	IC ₅₀ µg/ml
ACB	25,51±0,07	34,89±0,07	55,19±0,35	66,52±0,21	70,80±0,21	96,03±0,99	132,10±0,07	21,79±0,02
MB	34,28±1,41	43,73±0,71	55,39±0,95	69,98±0,14	78,91±0,14	101,94±0,07	155,29±0,00	19,62±0,01
DB	22,21±0,31	32,04±0,12	43,00±0,07	53,35±0,07	67,17±0,71	70,80±0,00	88,24±3,01	42,40±0,07
ACM	20±0,21	29,05±0,32	40,92±0,64	58,23±0,07	66,23±0,07	80,54±0,25	90,54±0,12	39,59±0,12
MM	3,11±0,35	41,55±0,42	54,33±1,48	61,23±0,07	63,23±0,07	97,68±0,49	101,34±0,71	24,32±0,00
DM	21,11±0,35	29,55±0,42	41,33±1,48	49,65±0,50	60,15±0,13	69,65±0,36	77,71±0,08	56,81±0,02
	62,25 µg	125 µg	250 µg	500 µg	1000 µg	2000 µg	4000 µg	IC₅₀µg/ml
Acarbose	7,76±0,17	8,08±0,30	9,46±0,11	10,70±0,96	31,81±2,89	37,21±3,54	53,05±1,59	3650,93±10,70

- Antibiogramme

Bactérie	Antibiogramme	Antibiotique	Zone d'inhibition
<i>Escherichia coli</i>		Pénicilline (R) Ofloxacine (I) Cefotaximine (S) Fosfomycine (R) trométamol	/ 35mm 32mm /
<i>Bacillus subtilis</i>		Pénicilline (R) Spiramycine (S)	/ 30mm
<i>Staphylococcus aureus</i>		Pénicilline (I) Ofloxacine (I) Clindamycine (I)	41mm 42mm 36mm

Abstract

This research concerns the biological properties and phytochemical study of three extracts of different polarity (dichloromethane, methanol and ethyl acetate) from two strains of *Spirulina platensis*, one originating from Algeria and the other from Malaysia, by analyzing their antioxidant, antidiabetic, anti-inflammatory and antibacterial activities, as well as their polyphenol and flavonoid composition. The results of the methanol extract in DPPH radical scavenging demonstrate significant differences between the strains. Indeed, the methanolic extract of the Algerian strain has superior antioxidant activity with an IC₅₀ of 6.51 ± 2.13 µg/ml compared to an IC₅₀ of 22.94 ± 1.02 µg/ml for the methanolic extract of the Malaysian strain, and a FRAP capacity of (IC₅₀= 21.98 ± 0.19 µmol Fe²⁺/g). However, no such effect was observed for the Malaysian strain. In addition, ABTS radical scavenging by the methanolic extract of the Algerian strain with an IC₅₀ of 13.73 ± 0.36 µg/ml was observed, compared to an IC₅₀ of 18.24 ± 0.34 µg/ml for the Malaysian strain.

With regard to antidiabetic activity, the Algerian methanol extract inhibits α-amylase with an IC₅₀ of 19.6 ± 0.01 µg/ml compared to 24.32 ± 0.00 µg/ml for the Malaysian extract. Anti-inflammatory activity, assessed by reduction in bovine serum albumin denaturation, also showed superiority of the Algerian extract (IC₅₀ 1.81 ± 0.02 µg/ml) compared to the Malaysian extract (IC₅₀= 2.55 ± 0.01 µg/ml).

The antibacterial evaluation of the methanolic extracts demonstrated better activity of the Algerian strain against *E. coli* with an inhibition zone of 37 ± 0.14 mm at a low concentration and better activity of the Malaysian strain against *S. aureus* with an inhibition diameter of 31 ± 0.14 .

The results of the polyphenol and flavonoid assay of the Malaysian and Algerian strains showed that their methanol extracts have a similar polyphenol content (35.66 ± 0.16 µg GAE/mg and 36.45 ± 0.33 µg GAE/mg) respectively. As for flavonoids, the ethyl acetate extracts of the Algerian and Malaysian strains have considerable concentrations (42.22 ± 0.14 µg QE/mg and 35.76 ± 0.44 µg QE/mg respectively). These results highlight the potential of Algerian *Spirulina* methanol extract as a source of bioactive compounds for nutraceutical and pharmaceutical applications.

Keywords: *Spirulina platensis*, methanol extract, biological activities, Algeria, Malaysia.

Résumé

Cette recherche concerne les propriétés biologiques et l'étude phytochimique de trois extraits de polarité différente (dichlorométhane, méthanol et acétate d'éthyle), de deux souches de *Spirulina platensis*, l'une originaire d'Algérie et l'autre de Malaisie, en analysant leurs activités antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires et antibactériennes, ainsi que leur composition en polyphénols et flavonoïdes. Les résultats de l'extrait méthanolique dans le piégeage du radical DPPH, démontrent des différences significatives entre les souches. En effet l'extrait méthanolique de la souche algérienne présente une activité antioxydante supérieure avec une IC₅₀ de $6,51 \pm 2,13 \mu\text{g/ml}$ contre IC₅₀ de $22,94 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$ de l'extrait méthanolique de la souche malaisienne, une capacité FRAP de ($\text{IC}_{50}=21,98 \pm 0,19 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$). Par contre une absence de cet effet a été enregistré pour la souche malaisienne. En outre un piégeage du radical ABTS par l'extrait méthanolique de la souche algérienne avec une IC₅₀ de $13,73 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ a été enregistré contre une IC₅₀ de $18,24 \pm 0,34 \mu\text{g/ml}$ de la souche malaisienne.

Concernant l'activité antidiabétique, l'extrait méthanolique algérien inhibe l' α -amylase avec une IC₅₀ de $19,62 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$ contre $24,32 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$ pour l'extrait malaisien. L'activité anti-inflammatoire évaluée par réduction de la dénaturation de l'albumine sérique bovine montre également une supériorité de l'extrait algérien ($\text{IC}_{50}=1,81 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$) contre ($\text{IC}_{50}=2,55 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$) pour l'extrait malaisien.

L'évaluation antibactérienne des extraits méthanoliques démontre une meilleure activité de la souche algérienne contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de $37 \pm 0,14 \text{ mm}$ à une concentration faible et une meilleure activité de la souche malaisienne contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de $31 \pm 0,14 \text{ mm}$.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes de la souche malaisienne et algérienne ont montré que leurs extraits méthanoliques possèdent une teneur similaire en polyphénols ($35,66 \pm 0,16 \mu\text{g GAE/mg}$ et $36,45 \pm 0,33 \mu\text{g GAE/mg}$) respectivement. En ce qui concerne les flavonoïdes les extraits acétate d'éthyle des souches algériennes et malaises possèdent des concentrations considérables de ($42,22 \pm 0,14 \mu\text{g QE/mg}$ et $35,76 \pm 0,44 \mu\text{g QE/mg}$ respectivement). Ces résultats soulignent le potentiel de l'extrait méthanolique de la *Spiruline* algérienne comme source de composés bioactifs pour des applications nutraceutiques et pharmaceutiques.

Mots-clés : *Spirulina platensis*, extrait méthanolique, activités biologiques, Algérie, Malaisie.

الملخص

تتناول هذه الدراسة الخصائص البيولوجية والدراسة الفيتوكميائية لثلاثة مستخلصات ذات قطبية مختلفة (ثنائي كلورو الميثان، الميثانول وأسيتات الإيثيل) من سلالتين من *Spirulina platensis* ، إدراهما من الجزائر والأخرى من ماليزيا، من خلال تحليل أنشطتها المضادة للأكسدة، المضادة للسكري، المضادة لالالتهابات والمضادة للبكتيريا، وكذلك تكوينها من البولييفينول والفلافونويد. تظهر نتائج المستخلص الميثانولي في التقاط جذور DPPH اختلافات كبيرة بين السلالتين. في الواقع، يُظهر المستخلص الميثانولي للسلالة الجزائرية نشاطاً مضاداً للأكسدة أعلى مع IC₅₀ يبلغ 2,13±6,51 μg/ml مقابل IC₅₀ يبلغ 22,94 μg/ml 1,02± μg/ml للمستخلص الميثانولي للسلالة الماليزية، وقدرة FRAP تبلغ (IC₅₀=21,98±0,19 μmol Fe²⁺/g). في المقابل، لم يُسجل هذا التأثير في السلالة الماليزية. بالإضافة إلى ذلك، تم تسجيل احتجاز جذور ABTS بواسطة المستخلص الميثانولي للسلالة الجزائرية بقيمة IC₅₀ تبلغ 0,36±13,73 μg/ml مقابل قيمة IC₅₀ تبلغ 0,34±18,24 μg/ml للسلالة الماليزية .

فيما يتعلق بالنشاط المضاد لمرض السكري، فإن المستخلص الميثانولي الجزائري يثبط α-أميليز بقيمة IC₅₀ تبلغ 19,6±0,01 ميكروغرام/مل مقابل 24,32±0,00 ميكروغرام/مل للمستخلص الماليزي. كما أظهرت النشاط المضاد لالتهابات، الذي تم تقييمه من خلال تقليل تحلل ألبومين مصل البقر، تقوّق المستخلص الجزائري (IC₅₀ 1,81±0,02 μg/ml مقابل (IC₅₀=2,55±0,00 μg/ml للمستخلص الماليزي .

أظهر التقييم المضاد للبكتيريا للمستخلصات الميثانولية نشاطاً أفضل للسلالة الجزائرية ضد *E. coli* مع منطقة تثبيط تبلغ 0.14±37 مم بتركيز منخفض ونشاط أفضل للسلالة الماليزية ضد *S. aureus* مع قطر تثبيط يبلغ 0.14±31 .

أظهرت نتائج قياس البولييفينول والفلافونويد في السلالتين الماليزية والجزائرية أن مستخلصاتها الميثانولية تحتوي على نسبة مماثلة من البولييفينول 0,16±0,16 (35,66 μg GAE/مل) ميكروغرام/مل و 0,33±36,45 μg GAE/مل (على التوالي). أما بالنسبة للفلافونويدات، فإن المستخلصات الأسيتات الإيثيلية للسلالتين الجزائرية والماليزية تحتوي على تركيزات كبيرة (QE/mg 0.44±35.76 و 0.14μg QE/mg على التوالي). تؤكد هذه النتائج على إمكانات مستخلص الميثانول من سبيرولينا الجزائرية كمصدر للمركبات النشطة بيولوجيًّا للتطبيقات الغذائية والصيدلانية..

الكلمات المفتاحية: سبيرولينا بلاتينسيس، مستخلص الميثانول، الأنشطة البيولوجية، الجزائر، ماليزيا

**Screening phytochimique des extraits de la microalgue *Spirulina platensis* provenant
d'Algérie et de Malaisie et évaluation de leurs activités biologiques**

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master II en Biochimie

Cette recherche concerne les propriétés biologiques et l'étude phytochimique de trois extraits de polarité différente (dichlorométhane, méthanol et acétate d'éthyle), de deux souches de *Spirulina platensis*, l'une originaire d'Algérie et l'autre de Malaisie, en analysant leurs activités antioxydantes, antidiabétiques, anti-inflammatoires et antibactériennes, ainsi que leur composition en polyphénols et flavonoïdes. Les résultats de l'extrait methanolique dans le piégeage du radical DPPH, démontrent des différences significatives entre les souches. En effet l'extrait methanolique de la souche algérienne présente une activité antioxydante supérieure avec une IC₅₀ de 6,51±2,13 µg/ml contre IC₅₀ de 22,94±1,02 µg/ml de l'extrait methanolique de la souche malaisienne, une capacité FRAP de (IC₅₀=21,98±0,19 µmol Fe²⁺/g). Par contre une absence de cet effet a été enregistré pour la souche malaisienne. En outre un piégeage du radical ABTS par l'extrait methanolique de la souche algérienne avec une IC₅₀ de 13,73±0,36 µg/ml a été enregistré contre une IC₅₀ de 18,24±0,34 µg/ml de la souche malaisienne.

Concernant l'activité antidiabétique, l'extrait méthanolique algérien inhibe l'α-amylase avec une IC₅₀ de 19,62±0,01 µg/ml contre 24,32±0,00 µg/ml pour l'extrait malaisien. L'activité anti-inflammatoire évaluée par réduction de la dénaturation de l'albumine sérique bovine montre également une supériorité de l'extrait algérien (IC₅₀=1,81±0,02 µg/ml) contre (IC₅₀=2,55±0,01µg/ml) pour l'extrait malaisien.

L'évaluation antibactérienne des extraits méthanoliques démontre une meilleure activité de la souche algérienne contre *E. coli* avec une zone d'inhibition de 37±0,14 mm à une concentration faible et une meilleure activité de la souche malaisienne contre *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 31±0,14.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes de la souche malaisienne et algérienne ont montré que leurs extraits méthanoliques possèdent une teneur similaire en polyphénols (35,66±0,16 µg GAE/mg et 36,45±0,33 µg GAE/mg) respectivement. En ce qui concerne les flavonoïdes les extraits acétate d'éthyle des souches algériennes et malaisiennes possèdent des concentrations considérables de (42,22±0,14µg QE/mg et 35,76±0,44µg QE/mg respectivement). Ces résultats soulignent le potentiel de l'extrait méthanolique de la *Spiruline* algérienne comme source de composés bioactifs pour des applications nutraceutiques et pharmaceutiques.

Mots-clés : *Spirulina platensis*, extrait méthanolique, activités biologiques, Algérie, Malaisie.

Laboratoires de recherche : laboratoire de biochimie appliquée et Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) à Constantine.

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. MEDOUKAL Imen (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrante : Dr. OUELBANI Rayene (MCB- U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : Dr. AYECHE Amina (MAA- U Constantine 1 Frères Mentouri).