



#### الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

#### République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

- البشير الابراهيمي برج بوعريريج-جامعة

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

#### **Mémoire**

En vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Qualité et sécurité des produits alimentaires

#### Intitulé:

Etude des propriétés biologiques d'Arthrospira plantensis et son incorporationdans un produit de confiserie - Cas de loukoum –

Présenté par :

AMRAH Hadda - BENMSAHEL lotfi -DADACHE Meriem

Soutenu le \_25\_ / \_06\_/ 2023, Devant le Jury

**Devant le Jury:** 

**Président :** MEZITI Asma MCB Université de B.B.A.

**Encadreur :** HIHAT Soraya **MAA** Université de B.B.A.

**Examinateur :** ALILI Dahmane MCB Université de B.B.A.

Année universitaire : 2022/2023

## **R**emerciement

Tout d'abord, nous remercions Dieu de nous avoir donnés la capacité d'écrire et de penser, la force et la patience pour continuer à réaliser notre rêve.

Nous tenons à remercier M<sup>eme</sup> HIHAT Soraya, encadreur de ce mémoire pour sonapprobation et sa direction de ce travail et sa confiance.

Nous remercions chaque membre du jury : M<sup>me</sup> MEZITI Asma, d'avoir acceptée deprésidée le jury et M<sup>er</sup> ALILI Dahmane d'avoir pris son temps pour examiner le manuscrit, et nous avoir honorés en tant que membres du comité de notre mémoire.

Tous nos remerciements au cadre administratives et pédagogique Terre et de faculté desSciences de la vie et de la Terre et de l'univers d'université de BBA

Tous nos remerciements au professeurs et intervenants dans toute les de formationuniversitaire.

Tous nos remerciements à l'équipe du laboratoire de CACQE de setif surtout le directeur et les

responsables des laboratoires : M<sup>r</sup> BERTAL Ayach. Souad et Naïma

Tous nos remerciements à l'équipe de production l'institut spécialiser en technologique dela pêche et de

l'aquaculture (ITPA) a collège de <u>L'Algérie</u> - Bir El Djir wilaya Oran

Les responsables des laboratoires de faculté SNV. Merci pour votre patience et votresoutien tout au long

Nous remercions tous les professeurs qui nous ont aidés à réaliser nos recherches.

Enfin, nous remercions tous les amis qui nous ont accompagnés tout aux longues annéesd'étude universitaire et tous ceux qui nous ont soutenus de notre famille

de ce travail.



#### Je dédie ce mémoire :

Aux personnes les plus chères dans ma vie, A l'âme de mes chers parents. Vous m'avez toujours soutenu et encouragé durant les longues années de ma vie.

À la personne qui a été d'un grand secours pour atteindre cette étape importante de ma vie,

Merci, mon grand frère. « Ammar", et tous mes frères et sœurs

A ma sœurs "feryal""Randa " A mes chers frères : wahabe – Abd Alah– Antar – A les petits agréables Nourhane - Ayoub -Zakaria

A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus difficiles.

A tous mes amies de la section de contrôles et sécurité alimentaire, en particulier mes chère amies "Lotfi", "Meriem" pour la discipline accompli pour finaliser ce travail

A toutes mes amies Ilham.Amel. Djihan.Zahra. Ikram.Nouh. Abdrahmen .Ossama qui m'ont accompagné tout au long de mon parcours universitaire et qui a été comme des sœur et frères .

Enfin, je dédie cordialement cette thèse à tous mes proches et à toute ma famille.

**HADDA** 



# **D**édicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère

A mes chères sœurs que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A mon adorable petite sœur maria qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mes grands-mères, mes oncles et mes tantes. Que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connus Jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs Encouragements. Sans oublier mes collègues Hadda et Lotfi pour son soutien morale, sa patience et sa Compréhension tout au long de ce projet



Meriem



A toutes les personnes que je connais

Lotfi

### Table de matière

Dédicace	
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur Arthrospira platensis	
I. Présentation d'Arthrospira platensis	3
I-1- Définition des micro algues	3
I.1.a. Définition d' Arthrospira platensis	3
I-1-b- Morphologie	4
I-1-c- Taxonomie	4
I-2- Ecologie de la spiruline	5
I-2-1-Reproduction et cycle de vie d'Arthrospira platensis	5
I-2-2- Culture d'Arthrospira platensis	6
I-2-3-Milieu de culture	7
I-2-4- Condition de culture	8
I-3- Applications principales d'Arthrospira platensis	9
I-4-Biochimie d'Arthrospira platensis	10
Chapitre II : Généralité sur la confiserie	
II- Historique	16
II- 1- Définition de la confiserie	16
II-2- Composition nutritionnelle	16
II-3-Classification	17
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
III-1-Caractérisation d'Arthrospira platensis	20

III-2-Extraction des principes actifs	21
III.3- Analyses physico chimiques d' Arthrospira platensis	22
III-3-1-Humidité	22
III-3-2-Potentiel d'hydrogène pH	22
III-3-3 Le taux de cendre	22
III -4- Analyses effectués sur l'extrait	23
W.4.1 Decree describer es estimates	23
III-4-1- Dosage des substances antioxydantes	22
III-4-1-a. Dosage des polyphénols totaux	23
III-4-1-b. Flavonoïdes totaux	24
III-4-1.c. Activité anti-radicalaire DPPH	24
III-4-2. Activités antibactériennes	25
III -5-Caractérisation du loukoum élaborée	28
III-5-1 -a- Etapes de préparation de recette du Loukoum incorporé	28
III-5-2-b- Les conditions de préparation du loukoum incorporé	29
	30
III-5-3-c Bilan matière	
III-5-4-d- Diagramme de fabrication de Halkoume à la maison	30
III-5.2. Analyses du produit fini	30
III-5.2.1.a- Humidité	31
III-5-2.1 .b- Cendre	31
III-5-2.1-c- Mesure de pH	31
III-5-2.1.d . Mesure de matières grasse	31
III-5-2.1-e. Mesure des Sucre totaux	
	32
III-5-2.1-f. Mesure du taux de protéine	33
III-5-2.2. Analyses microbiologiques du Loukoum	34
III-5-2.2-a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes	34
Fécaux	
III-5-2.2b. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures	
III-6. Analyses sensorielles du Loukoum incorporé	34
Résultats et discussion	
IV.1. Résultats de la composition physico-chimique de la poudre d' <i>Arthrospira</i> platensis	36
IV.1 .1. Le taux de l'humidité	36

IV.1 .2. Le taux de cendre	37
IV.1 .3. Le taux de protéine	37
IV.1 .4. Le PH	37
VI.2. Extraction et dosages des composés phénoliques	38
VI.2.1. Rendement d'extraction par macération alcoolique	38
VI.2.2. Teneurs en antioxydants	38
VI.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux	39
VI.2.2.2. Teneur en flavonoïdes	39
IV.3. Activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)	40
VI.4. Activité antibactérienne d' Arthrospira platensis	41
IV.5. Caractérisation du Loukoum formulé	43
IV.5.1. Analyses physico chimiques du loukoum incorporé d' <i>Arthrospiro platensis</i>	a <b>43</b>
VI.5.2. Détermination du pH	45
VI.5.3. Teneur en protéine du produit formulé	45
VI .6. Analyses microbiologiques du loukoum	46
VI.7.Analyses sensorielles du loukoum formulé	47
Conclusion	50
Références bibliographiques	52
Annexes	63
Résumé .	<b>73</b>

#### Liste des abréviations

- ✓ **AA**: l'acide arachidonique.
- ✓ **AG**: Acide Gras.
- ✓ **AGL:** Acide gamma-linolénique.
- ✓ **AGPI:** Acides Gras Polyinsaturés.
- ✓ AGS: Acide Gras Saturé.
- ✓ **AGMI:** Acide Gras Monoinsaturé.
- ✓ **ALA:** Acide α-Linoléique.
- ✓ **AOAC**: Association international américain des chimistes
- ✓ **AFNOR** : Association française de normalisation
- ✓ **Ab**: Absorbance en nm (nanomètre).
- ✓ **BN**: Bouillon nutritif
- ✓ CMV :Cytomégalovirus humain .
- ✓ **CACQE** : Le Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage et de répression de fraude de produits destiner ou consommateurs.
- ✓ **DHA:** Acide docosahexaénoïque.
- ✓ **DPPH**:Activité anti-radicalaire.
- ✓ **EPA:** Acide eicosapentaénoïque.
- ✓ **E**: Escherichia
- ✓ **FAO**: Food and Agriculture Organization Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- ✓ **Fe:** Fer.
- ✓ **FMAT:** Flore mésophile aérobie totale
- ✓ G-250:Colorant Coomassie bleu brillant.
- ✓ **HRE:** l'humidité relative d'équilibre.
- ✓ **HSV**: Herpès Simplex Virus.
- ✓ **H:** Humidité %.

- ✓ H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>: Acide phosphotungstique .
- ✓ H<sub>3</sub>PM<sub>012</sub>O<sub>40</sub>: Acide phosphomolybdique.
- ✓ ITPA: L'institut spécialiser en technologique de la pêche et de l'aquaculture.
- ✓ K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>: Solution de ferricyanure de potassium .
- ✓ **Mg:** Magnesium,
- ✓ **MH**: Muller-Hinton.
- ✓ M: Concentration molaire 1mol/1litre
- ✓ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Carbonate de sodium.
- ✓ N:Azote.
- ✓ **NADPH:** Nicotinamide Adenine Dinucléotide Phosphate.
- ✓ N: Normal.
- ✓ µg: Microgramme
- ✓ µl: Microlitre
- ✓ µm: Micromètre
- ✓ **mg**: Milligramme
- ✓ ml: Millilitre
- ✓ **mm**: Millimètre
- ✓ **nm**: Nanomètre.
- ✓ pH: Potentiel d'hydrogène.
- ✓ **P:** Phosphore.
- ✓ **P**: Masse de la prise d'essai.
- ✓ **PDA** : La gélose dextrose à la pomme de terre.
- ✓ **PZ**: Pas de zone d'inhibition ..
- ✓ **R**<sub>1</sub>: Règle de sécurité 1.
- ✓ **RH**<sub>2</sub>: Composés réduits .
- ✓ **R:** Rendement en extraits%.
- $\checkmark$  **S**: Soufre.
- ✓ **SDA** l'acide stéaridonique .

- ✓ **SOD:** Super Oxyde Dismutase .
- ✓ **Tc**: Le taux de cendre.
- ✓ UV: Ultra-violet.
- ✓ VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.
- ✓ VRBL : Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge.

  neutre.

## Listes des figures

Figure 01	Figure d' Arthrospira platensis	
Figure 02	Différentes formes prises par L' <i>Arthrospira platensis</i> : (A) spiralée, (B)ondulée, (C) droite	
Figure 03	Le cycle de vie de l'Arthrospira platensis	6
Figure 04	Les bonbons de sucre cuit	17
Figure 05	Les gélifies	18
Figure 06	Les chewing-gums	18
Figure 07	Les réglisses	19
Figure 08	Guimauve	19
Figure 09 Fruits confits		19
Figure 10	Photographie de serre (A) et (C) de bassin de culture avec système d'agitation (B) et de formes séchées et broyée (E) (D) de <i>Spirulina plarensis</i> .	e <b>20</b>
Figure 11	Localisation géographique de l'institut technologique de la pêche et de l'aquaculture.	21
Figure 12	Photographie de la préparation d'extraits aqueux d' Arthrospiro platensis	a <b>26</b>
Figure 13	Etapes de fabrication de Loukoum avec d' Arthrospira platensis	30
Figure 14	Codes significatifs d'acceptabilité de produits	35
Figure 15	Photographie du loukoum avec d' Arthrospira platensis	43
Figure 16	igure 16 Résultats de dosage de protéine méthode de Bradford	
Figure 17B	Représentation graphique du profil sensoriel du loukoum avec ou sans la spiruline poudre d' <i>Arthrospira platensis</i> Perrésentation graphique des résultats du test de masure de	48
<b>Figure17B</b> Représentation graphique des résultats du test de mesure de degré de satisfaction pour loukoum avec spiruline.		48

## Liste des tableaux

Tableau I	Comparaison de teneur en protéines d'Arthrospira platensis avec d'autre aliments	c11
Tableau II	Acides aminés essentiels de la spiruline en gramme pour 100 g	11
	de protéines	
Tableau III	Les composants de recette de Halkome en g/250g de poids finale	29
Tableau IV	Composition physico-chimique de la spiruline	36
Tableau V	Rendement d'extraction et teneurs en composés phénoliques de	38
	l'extrait éthanolique d' Arthrospira platensis.	
Tableau VI	Les résultats de l'activité antibactérienne	42
Tableau VII	Récapitulation des résultats des analyses physico-chimiques	44
Tableau VIII	Résultats de l'analyse d'acidité des échantillons du loukoum	45
Tableau IX	Résultats des analyses microbiologiques du Loukoum	46

# Introduction

#### Introduction générale

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres, et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie dans les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque. Un grand nombre d'entre elles, pour ne pas dire une large majorité, sont des formes unicellulaires (micro-algues) dont la reconnaissance nécessite des techniques microscopiques parfois très particulier pour les défranciser. (Julie Person, 2010).

Elles ne constituent pas au sein des végétaux un ensemble homogène, mais se répartissent entre plusieurs lignées évolutives complètement indépendantes les unes des autres. Indispensables à notre corps, elles recèlent des propriétés intéressantes tant pour l'alimentation que pour l'industrie agroalimentaire (Le Bras et al., 2016).

Considérées comme des ressources alimentaires non conventionnelles, plusieurs d'entre elles ont été adoptées par le consommateur. Aujourd'hui la Spiruline est au menu. Véritable concentré de vitamines, de fer, d'antioxydants, de protéines végétales énergisantes, d'oligoéléments, de sels minéraux et bien d'autres éléments, elle possède la composition la plus complète comparativement à tous les autres végétaux et sources animales. Selon l'UNESCO, c'est «l'aliment idéal et le plus complet de demain »; pour l'OMS « il s'agit du meilleur aliment pour l'humanité au 21ème siècle » (Manet, 2016).

De ces qualités nutritionnelles exceptionnelles, il est devenu évident que les chercheurs s'y sont vite intéressés. Des expériences scientifiques sur sa culture ont été menées et plusieurs effets bénéfiques de sa composition ont été prouvés.

Aujourd'hui, la spiruline nous est proposée dans l'alimentation humaine comme complément alimentaire de haute qualité, comme aliment thérapeutique dans le traitement de certaines maladies, comme énergétique et nutritionnel pour les sportifs.et même pour les préparations cosmétiques ... etc.

Dans cette optique, s'est vu naître notre intérêt à cette micro-algue par ce travail qui donne une vision synthétique de ce potentiel à travers les objectifs essentiellement assignés dans ce contexte, à savoir :

- ✓ L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de la spiruline.
- ✓ La détermination des propriétés physico-chimique de la spiruline
- ✓ Le dosage des polyphénols contenus dans cette matière
- ✓ La détermination de l'activité antioxydante de la spiruline.
- ✓ La détermination de l'activité antibactérienne de la spiruline vis-à-vis quelques souches pathogènes.
- ✓ Démontrer l'effet d'incorporation de la spiruline dans un produit de la confiserie Lokoum sur l'échelles de consommation et donnez une prévision positive dans le cadre d'incorporation dans le domaine d 'IAA
  - La question poser à ce qu'après avoir connaître les caractéristiques de la spiruline. que porte son incorporation a un produit alimentaire ?
  - A ce que le produit final porte les mêmes critères de cette microalgue avec une bonne qualité nutritionnelle et une teneur remarquable de prottienne porter par la spiruline ?

Pour rependre au questions la première partie de ce manuscrit (revue bibliographique) permettra de découvrir la spiruline, en évoquant ses principales caractéristiques (Ecologique. biochimique. compositions

.....), ses principales activités biologiques et principaux domaines d'application. S'en suivra une synthèse rappelant quelques principes sur les confiseries avec des exemples avant d'exposer la partie expérimentale qui consiste à valoriser quelques propriétés physicochimiques et microbiologiques de la spiruline à travers les quelques analyses effectuées et les résultats obtenus.

Un troisième volet expérimental sera par la suite alloué à l'impact d'incorporation de la spiruline sur la qualité organoleptique et microbiologique des échantillons du loukoum préparés, pour conclure par un résumé qui englobe les résultats de notre travail et les perspectives pour des recherches à venir.

# Chapitre I Généralités sur la spiruline

#### I. Présentation d'Arthrospira platensis

#### I-1- Définition des micro algues

Les algues sont un groupe de plantes connues depuis les civilisations anciennes. Le terme algues a été introduit pour la première fois par Linnaeus en 1753 et Jussieu en 1789 qui a classé les plantes et délimité les algues du reste du monde végétal à son état actuel (Sahoo et Seckbach, 2015). Elles sont des espèces qui vivent toutes en milieu aquatique (Barry et *al.*, 2014) et comprennent 18% du règne végétale (Morère et Pujol, 2002).

Les algues sont divisées par dimensions en macroalgues (algues macroscopiques) et microalgues (algues microscopiques).

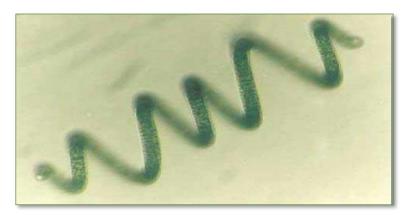
Les macroalgues sont des algues multicellulaires de taille proche du centimètre et qui croissent le plus souvent dans des bassins naturels d'eau douce ou d'eau salée (**Tebbani et** *al.*, **2014**).

Les microalgues sont principalement des organismes unicellulaires photosynthétiques vivant en milieu aquatique ou en environnement terrestre humide ouaérien. La morphologie et la taille des microalgues varient très fortement en fonction des espèces et des groupes taxonomiques. Les microalgues sont des organismes eucaryotes qui possèdent les principales caractéristiques de la cellule eucaryote végétale (**Tebbani et** *al.*, **2014**).

Les microalgues se distinguent des cyanobactéries qui sont des organismes procaryotes longtemps qualifiés « d'algues bleues ». La spiruline représentant très connu de ce groupe est donne une bactérie photosynthétique et non une algue (**Fleurence**, **2021**).

#### I.1.a. Définition d'Arthrospira platensis

La spiruline dont le nom scientifique est « *Arthrospira platensis*» appartient aux bactéries photosynthétiques oxygéniques qui recouvrent les groupes Cyanobactéries et Prochlorales. Ce sont des cyanobactéries filamenteuses et non hétérokystes que l'on trouve généralement dans les régions tropicales et subtropicales dans des plans d'eau chauds à forte teneur en carbonate/bicarbonate, pH et salinité élevés (**Ali et Saleh,2012**).



**Figure 01** : L' *Arthrospira platensis* (**Jourdan, 2012**)

#### I-1-b- Morphologie

l'Arthrospira platensis est une microalgue uni ou multicellulaire et filamentaire. C'est une bactérie grâce à sa structure procaryote qui possède une membrane pluristratifiée de 4 couches. Son nom dérivé de la configuration physique spiralée et hélicoïdale de ses filaments, en latin "spira"signifie enroulement (**Manet, 2016**). Ce filament est appelé "trichome " à un longueur variable(généralement de 50 à 500 μm) et un diamètre proche de 3 à 12μm, mais lesdimensions des cellules, le degré d'enroulement et la longueur des filaments varient selon les espèces (**Habib et** *al.*, 2008).

On distingue plusieurs morphologies "spiralées", "ondulées" et "droites" figure (02) (**Tsarahevitra, 2005**), cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat. (**Charpy et** *al.*, **2008**)

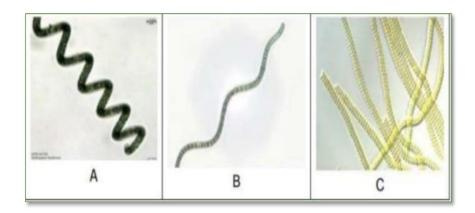


Figure 02: Différentes formes prises par d'Arthrospira platensis: (A) spiralée, (B) ondulée, (C) droite (Charpy et al.,2008).

#### Chapitre I

#### I-1-c- Taxonomie

Arthrospira platensis est une cyanobactérie (anciennement désignée par le terme « algue bleue »puis cyanophycée). Elle appartient donc au domaine des bactéries (Bacteria) et se classe parmi les bactéries gram négatives. Les cyanobactéries forment l'essentiel des bactériescapables dephotosynthèse avec production d'oxygène (Charpy et al., 2008).

On la classe selon Ripley Fox (1999);

**Règne**: Monera

Sous règne: Prokaryota Phylum Cyanobacteria

Classe: Cyanophyceae

**Ordre:** Nostocales

Famille: Oscillatoriceae

**Genre:** Arthrospira

Espèce: Arthrospira platensis.

#### I-2-Ecologie de la spiruline

Le développement de la spiruline, qu'elle soit à l'état sauvage ou en culture contrôlée nécessite un environnement comprenant de l'eau, une zone de température adaptée, de la lumière pour fournir de l'énergie à la photosynthèse, un équilibre nutritif acido-basique et un pH favorable. La spiruline pousse dans les lacs sodiques de tous les continents. Il peut supporter de très fortes concentrations de sel. Sa croissance est optimale à des concentrations de 22 à 60 g/1 de sel. Le pH optimum d'une culture florissante se situe entre 9 et 11. La température optimale de croissance de la Spiruline est comprise entre 32°C et 40°C, avec une fourchette de 18 à 50°C. Le facteur limitant de la croissance est la température diurne qui ne doit pas descendre en dessous de 20°C (**Tedjani et al., 2013**).

Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (**Charpy et** *al.*, **2008**).

#### I-2-1-Reproduction et cycle de vie d'Arthrospira platensis

La spiruline croît de 25% par jour, sa quantité peut donc doubler en 4 jours.

Sa reproduction est végétative (asexuée) et s'effectue par scission simple ou multiple par bourgeonnement ou encore par fragmentation au hasard.

Son cycle de vie est simplement un cycle de vie cellulaire, commençant par une seule spirale, qui est ensuite divisé en cellules d'hormogonie qui se développent à nouveau dans le temps en une seule spirale.

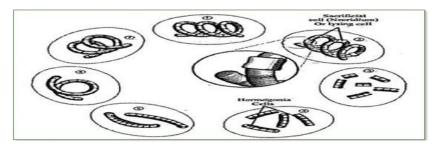


Figure 03 : Le cycle de vie de l'Arthrospira platensis (Sánchez et al., 2003)

Le cycle de vie d'*Arthrospira platensis* est caractérisé par trois étapes fondamentales : la fragmentation des trichomes, les processus d'agrandissement et de maturation des cellules d'hormogonie et l'élongation des trichomes (**Ali et Saleh, 2012**). Le trichrome mature est décomposé en deux à quatre chaînes de cellules par des cellules spécialisées appelées nécridies. Ces cellules spécialisées subissent une lyse, ce qui entraîne le glissement de plusieurs disques créant plusieurs cellules d'hormogonie. La formation de trichomes comprenant les cellules nécridiques est visible. Ces cellules s'éloignent ensuite de la cellule mère pour se développer en un nouveau trichrome. Pour que la cellule devienne un nouveau trichrome, ils perdent les parties attachéesdes cellules nécridales, les rendant arrondies aux extrémités avec peu ou pas d'épaisseur dans les parois (**Ciferri, 1983**).

#### I-2-2- Culture d'Arthrospira platensis

La culture d'*Arthrospira platensis* à grande échelle a commencé il y a 30 ans au Mexique eten Chine et plus tard dans d'autres parties du monde, en raison des conditions faciles de culture.La spiruline la plus cultivée est produite dans des étangs à canal ouvert, avec desroues à aubesutilisées pour agiter l'eau.

Les plus grands producteurs commerciaux de spiruline sont situés aux États-Unis,

Thaïlande, Inde, Taïwan, Chine, Bangladesh, Pakistan, Birmanie (Myanmar) en Grèce et au Chili. La spiruline est principalement connue à travers le monde pour sa valeur nutritionnelle

potentielle (Nicoletti, 2016).

Les microalgues sont capables de se multiplier de manière rapide dans des conditions favorables de culture. Ces conditions de croissance vont faire varier la composition descellules ainsi que les quantités et les caractéristiques des différentes substances qu'elles produisent (Clément-Larosière, 2012).

La croissance des micro algues se déroule en cinq phases

- ❖ Phase 1 : phase de latence : La cellule a besoin d'un temps d'acclimatation aux nouvelles conditions de culture qui lui sont appliquées ; la croissance est très faible.
- ❖ Phase 2 : phase d'accélération : Les cellules ont accumulé suffisamment de composés intracellulaires et ont doublé leur matériel génétique. La population va commencer à croître grâce à la reproduction végétative. Les cellules se divisent donc en deux cellules fillesidentiques contenant chacune la moitié du contenu de la cellule mère et qui par la suite se diviseront ellesmêmes en deux.
- ❖ Phase 3 : phase exponentielle : La vitesse de croissance de la culture reste constante et maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire. La quantité moyenne des constituants cellulaires ainsi que l'évolution de la population sont constantes.
- ❖ Phase 4 : phase stationnaire : Un des éléments du milieu va venir à manquer (lumière, azote, phosphore, carbone,) et en conséquence la vitesse de croissance diminue.
- ❖ Phase 5: phase de décroissance: La majorité des cellules ont épuisés leurs réserves intracellulaires, elles ne peuvent donc plus produire l'énergie nécessaire pour les processus de maintenance cellulaire et elles meurent. La quantité de cellules qui meurent est fortement supérieure à la quantité de cellules pouvant encore se reproduire. Certaines espèces de microalgue sont capables de se mettre en dormance cellulaire lorsque les conditions environnementales sont défavorables (Clément-Larosière, 2012).

#### I-2-3-Milieu de culture

Les microalgue comme Arthrospira platensis vivent dans une eau à la fois salée et alcaline.

- **a- L'eau :** utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. Condition toutefois que l'ensemencement initial en spirulines soit assez concentré.
- **b- Alcalinité et salinité :** pour raisons d'économie, avec une salinité totale de 13 g/L et une alcalinité de 0,1 g/L mais ces concentrations peuvent être doublées sans inconvénient.
- L'alcalinité est habituellement apportée par du bicarbonate de sodium, mais ce dernier

peut être remplacé en partie par de la soude caustique ou du carbonate de sodium qui ont d'ailleurs l'avantage de relever le pH initial du milieu de culture. Le natron ou trona peuvent aussi être utilisés.

- La salinité : est apportée par des fertilisants et du sel (chlorure de sodium). Le sel de cuisine peut être utilisé mais il contient souvent 2% de magnésie insoluble pouvant être à l'origine d'excès de boues minérales.

#### I-2-4- Condition de culture

Il existe trois facteurs essentiels déterminants pour la culture de la spiruline la température, la lumière et le pH.

#### I-2-4-a- Température

La température optimale pour la croissance de la spiruline est d'environ 35 à 38 °C, tandis que la température minimale requise pour une certaine croissance est d'environ 15 °C (**Belay, 2002**). Des températures supérieures à 40°C ne lui conviennent pas et elle meurt lorsqu'elle est exposée à 43°C (**Fox, 1999**).

#### I-2-4-b-Lumière

Comme en diminuant l'éclairement on diminue aussi la photosynthèse totale il faut, si possible éviter la photolyse. Autrement dit 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 lefond 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 butest deremuer l'eau et non de créer un dénivellement comme on le croit généralement (Fox,1999).

#### I-2-4-c- pH

Le pH du milieu est l'un des facteurs les plus importants dans la culture de la Spiruline. Le maintien d'un pH supérieur à 9,5 est obligatoire dans les cultures de spiruline afin d'éviter la contamination par d'autres algues. L'ajustement du pH est effectué en fournissantdu gaz CO2 au milieu. Comme dans d'autres installations de culture de masse à grande échelle. Le système d'alimentation ou d'admission de CO<sub>2</sub> utilisé est un compromis entre un transfert de gaz efficace, le coût en capital et le coût de fonctionnement du système (**Belay, 2002**).

#### I-3- Applications principales d'Arthrospira platensis

#### I-3-1- En alimentation humaine

La spiruline a été utilisée comme additif dans une variété d'aliments humains. La production actuelle de spiruline dans le monde est estimée à environ 3000 tonnes métriques. Actuellement, plus de 70 % du marché de la spiruline est destiné à la consommation humaine, principalement en tant que complément alimentaire en raison de sa richesse en protéines, acides aminés essentiels, minéraux, vitamines et acides gras essentiels (**Koru**, 2012).

Les conférences mondiales de la population et la conférence mondiale de l'alimentation l'ont déclaré mieux demain, l'organisation mondiale de la santé a constaté que la spiruline était un excellent aliment pour la consommation humaine. Les gens utilisent la spiruline dans leur propre stratégie de soins personnels pour plus d'énergie, d'assurance nutritionnelle, de contrôle du poids et de nettoyage. Les athlètes et les joggeurs découvrent plus d'endurance et de force, les seniors trouvent une meilleure absorption des nutriments, il est idéal et sans danger pour les enfants, les femmes enceinteset allaitantes (Unnikrishnan Nair, 2013).

#### I-3-2-En médecine

Des essais cliniques ont montrés que la spiruline peut servir de traitement complémentaire pour de nombreuses maladies (**Ghaeni et Roomiani, 2016**) grâce à ses grands effets dans d'importantes applications thérapeutiques : Effet anticancéreux / Effet hypoprotéinémique / Effet protecteur contre l'obésité et le diabète (**Demisu et Benti, 2018**).

Les capsules de spiruline se sont avérées efficaces pour abaisser le taux de lipides dans le sang, réduire les globules blancs après radiothérapie et chimiothérapie, ainsi que pour améliorer la fonction immunitaire (**Ghaeni et Roomiani, 2016**).

La spiruline exerce également d'autres activités pharmacologiques, c'est-à-dire qu'elle renforce l'immunité de l'organisme contre les bactéries pathogènes, les

champignons, les virusà ARN, y compris la grippe et le coronavirus et prévient les maladies inflammatoires ou le stress oxydatif cellulaire (Ragusa et al., 2021).

#### I-3-3- En cosmétique

L'abondance de composés bioactifs naturels rend les extraits d'*Arthrospira* parfaits pour une utilisation dans les cosmétiques commerciaux. Les formules contenant de la « spiruline » sont principalement vendues comme produits anti-âge qui combattent l'action des radicaux libres, hydratent et protègent la peau En raison de son activité antimicrobienne, des cosmétiques contre l'acné et d'autres infections bactériennes de la peau (**Furmniak** et *al*, 2017).

#### I-3-4- En agroalimentaire

Dans l'agroalimentaire, elle est utilisée comme colorant naturel (la phycocyanine est un des rares pigments naturels de couleur bleue) dans les chewing-gums, sorbets, sucreries, produits laitiers, boissons non alcoolisées. Elle apparaît également dans une gamme de produits algaux mélangée à du sel, des tagliatelles etc. En Suisse et au Japon, il existe depuis longtemps du pain à la spiruline (Charpy et *al.*, 2008).

#### I-3-5- Autres applications

Arthrospira platensis peut également être appliqué comme agent de phytoremédiation pour nettoyer les eaux chimiquement polluées. Les cellules de l'Arthrospira contiennent de grandes quantités de composés (enzymes, peptides, acides aminés, etc.) capables de se lier sous forme d'ions de métaux lourds à des composés organiques toxiques (Tabagari et al., 2019).

#### I-4-Biochimie de la spiruline

#### I-4-1- Compositions biochimiques de la spiruline :

La spiruline est considérée comme une source alimentaire de haute qualité nutritive, en raison notamment de sa haute digestibilité (**Bellhacen et** *al.*, **2013**).

La spiruline est l'une des sources les plus riches en protéines. Sa teneur en protéines jusqu'à 70%, ainsi que des quantités élevées d'acides gras essentiels, d'acides aminés essentiels, de minéraux, de vitamines (en particulier B12), de pigments antioxydants (phycobiliprotéines et caroténoïdes) et de polysaccharides (Madkour et al., 2012).

#### I-4-1-a- Protéines et acides aminés

Arthrospira platensis représente une source alternative de protéines et un complément ou additif alimentaire (Avila-Leon et al, 2012).

La teneur en protéines de la spiruline varie entre 50 et 70 % de son poids sec. Ces niveaux sont assez exceptionnels, même chez les micro-organismes (**Hajati et Zaghari**, **2019**). Le pourcentage des protéines dans la spiruline est beaucoup plus élevé que dans le poisson (25%), du soja (35%), de la poudre de lait (35%) et des céréales (14%) tableau (01). La spiruline est très riche en matières azotées et en contient deux fois plus que le soja, trois fois plus que la viande ou le poisson (**Charpy et al, 2008**).

**Tableau I :** Comparaison de teneur en protéines de la spiruline avec d'autre aliments (Magermans et *al.*, 2019)

Aliment	Teneur en proteins
Viande	30%
Poisson	25%
Soja	35%
Poudre de lait	35%
Céréales	14%
Spirulina platensis	50 -70%

D'un point de vue qualitatif, les protéines de la spiruline sont complètes car tous les acides aminés essentiels y figurent comme le montre le tableau II, et ils représentent 47% du poids total des protéines. Parmi ces acides aminés les plus faiblement représentés sont les acides aminés soufrés : méthionine et cystéine, qui sont toutefois présents à plus de 80 % de la valeur idéale définie par la FAO (**Falquet et Hurni, 2006**).

**Tableau II**: Acides aminés essentiels de la spiruline en gramme pour 100 g de protéines (**Clément, 1975**).

Acides aminés essentiel	Teneur en gramme pour 100 g de protéines
Isoleucine	6,24
Leucine	8,91
Lysine	4,58
Méthionine	2,65
Phenylalanine	4,53

Thréonine	5,23
Tryptophane	1,60
valine	6,74

#### I-4-1-b. Lipides et acides gras

Le taux de lipides dans les spirulines est d'environ 5 à 6 % (Sall et al., 1999). Les acides gras (AG) sont répartis de manière équivalente entre les polyinsaturés (AGPI) et les saturés (AGS), les monoinsaturé (AGMI) constituant environ 6 % du total (Bard, 2018).

La principale particularité de la spiruline est sa relative richesse en acide gammalinolénique (oméga 6) qui représente 40% des acides gras de la spiruline (**Hug et von der weid, 2011**) dont elle est ainsi considérée comme l'une des meilleures sources végétales. En particulier, la spiruline fournit également de l'acide γ-linolénique (ALA), de l'acide stéaridonique (SDA), de l'acideeicosapentaénoïque (EPA), l'acide docosahexaénoïque (DHA) et l'acide arachidonique (AA) (**Hbib et** *al.*, **2008**).

#### I-4-1-c-Glucides

Les glucides représentent 15 à 25% de la matière sèche des spirulines (**Cohen**, **2002**). L'essentiel des glucides assimilables est constitué de polymères tels que des glucosannes aminés (1,9% du poids sec) et des rhamnosannes aminés (9,7%) ou encore de glycogène (0,5%). Les glucides simples ne sont présents qu'en très faibles quantités (glucose, fructose et saccharose) on trouve aussi des polyols comme le glycérol, le mannitol et le sorbitol (**Falquet et Hurni**, **2006**).

Du point de vue nutritionnel, la seule substance glucidique intéressante par sa quantité chez la spiruline est le méso-inositol phosphate qui constitue une excellente source de phosphore organique ainsi que d'inositol (350-850 mg/kg de matière Sèche) (Hajati et Zaghari, 2019).

#### I-4-1-d- Vitamines

La spiruline a un excellent mélange de vitamines, y compris les vitamines A, Bl, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, E et H (**Anvar et Nowruzi, 2021**). La spiruline est très riche en vitamines du groupeB, notamment en vitamine B<sub>12</sub> puisqu'elle en contient 4 fois plus que le foie de veau. Même si la biodisponibilité de cette vitamine B<sub>12</sub> n'est pas clairement établie

(seulement 17 % seraitabsorbée et donc active chez l'Homme), la spiruline demeure une source exceptionnellement élevée pour un végétal.

D'autre part, Provitamine A (β-carotène) (jusqu'à 80% des caroténoïdes totaux) (**Pierlovisi, 2008**): Parmi les vitamines liposolubles, on note une teneur très élevée en β-carotène. L'organisme humain convertit ce pigment en vitamine A en quantité nécessaire à sesbesoins. Une étude récente de Wang et *al*. Portant sur des chinois adultes montre que l'ingestion de 4,5 mg de β-carotène provenant de la spiruline apporte 1mg de vitamine A. Il faudrait prendre entre 3 et 6 g de spiruline pour couvrir les besoins journaliers recommandés chez l'adulte (900 μg). En ce qui concerne les enfants de 6 mois à 3 ans, compte tenu de leur besoin journalier en cette vitamine (300 - 500 μg), il leur faudrait une dose de spiruline entre1 et 3 g/j (**Hug et Von der weid, 2011**).

#### **I-4-1-e- Pigments**

La spiruline contient de nombreux pigments dont la chlorophylle a, la xanthophylle, le bêta-carotène, l'échinenone, la myxoxanthophylle, la zéaxanthine, la canthaxanthine, la diatoxanthine, la 3 hydroxyéchinenone, la bêta-cryptoxanthine, l'oscillaxanthine, ainsi que les phycobiliprotéines c-phycocyanine et allophycocyanine (Habib et al.,2008). La spiruline contient des pigments principaux naturels bleu, vert et orange distinctifs à savoir respectivement des phycocyanines, des chlorophylles et des caroténoïdes (Marzorati et al., 2020).

#### I-4-1-f- Minéraux et oligo-éléments

La spiruline est naturellement riche en certains minéraux essentiels, particulièrement importants lors de malnutrition (**Hug et Von der weid, 2011**), Les minéraux d'intérêt particulier dans la spiruline sont le fer, le calcium, le phosphore et le potassium (**Liestianty et** *al.*, **2019**).

#### I-4-1-g - Enzymes

La spiruline contient un certain nombre d'enzymes. L'une des enzymes les plus importantes est la super oxyde dismutase (SOD) qui est importante pour éteindre les radicaux libres et retarder le vieillissement. Sans la présence de SOD dans le corps, nous sommes incapables de créer les 10 000 chaînes longues et complexes d'acides aminés appelées protéines. En fait, la spiruline a une activité enzymatique si élevée que

même après avoir été séchée (à 160 °C) elle recommencera souvent à pousser si elle est placée dans le bon milieu, la bonne température et la bonne lumière solaire. Il a été scientifiquement démontré que la spiruline augmente la reproduction des lactobacilles (bactéries qui digère nos aliments). Il contient plus de 2000 enzymes différentes (**Mishra** et *al.*, 2013).

#### I-5- Activités Biologiques d'Arthrospira platensis

Comme démontré précédemment *Spirulina platensis* de par sa composition riche et variée, n'a pas d'égal. Jusqu'à tout récemment, l'intérêt pour la spiruline portait uniquement sur sa valeur nutritive. Cependant, à l'heure actuelle bon nombre de chercheurs étudient les activités thérapeutiques possibles de ce microorganisme telles que l'activité anti-oxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne, antidiabétique et obésité (**Shao et al., 2019**).

#### I-5. a. Activité antimicrobienne

Certaines études préliminaires in vitro d'extraits de spiruline sur quelques bactéries pathogènes (E. coli et S. aureus) ont permis d'observer un potentiel antimicrobien efficace (Qureshi et Hunter, 1995). Ce résultat, certifie la possession de la cyanobactérie d'un mécanisme de défense pour lutter contre les bactéries pathogènes et donc une perspective de mettre au point ou de développer un antibiotique (agent antimicrobien) à base de plante, sûr et prometteur avec moins d'effets secondaires pouvant substituer à des médicaments synthétiques (Al-ghanayem, 2017).

#### I-5-b. Activité antioxydante :

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

#### I-5-c. Activité antivirale :

La richesse d'*Arthrospira platensis* en β-carotène, en vitamine B12 ainsi que d'autres vitamines du groupe B, depuis fort longtemps établi comme substances intéressantes dans la lutte contre

les infections virales n'explique pas entièrement le pouvoir antiviral de la spiruline. Il semblerait que les polysaccharides membranaires de cette algue soient aussi impliqués dans ce processus (**Andreani**, **2011**). L'équipe du professeur Hayashi, de l'American Chemical Society, a démontré l'efficacité in vitro des polysaccharides contre la réplication de plusieurs virus enveloppés comme les Herpès Simplex Virus (HSV), le virus de l'influenza, le virus de la rougeole, le cytomégalovirus humain (CMV) et le VIH-l (**Yougbare**, **2007**).

Le mécanisme semble reposer sur le fait que le virus, ne pouvant se fixer sur la membrane de la cellule hôte, ne peut donc ni pénétrer celle-ci ni, par voie de conséquence, se répliquer (Andreani, 2011).

#### I-5-d-. Activité anticancéreuse :

Différentes études et analyses d'experts, ont affirmé que la bêta-carotène, un des antioxydants implanté dans la spiruline, pourrait inverser le processus cancéreux et inhiber le déploiement des cellules cancérigènes.

Ces derniers, ont montré après une prise quotidienne d'**1g** de spiruline pendant un an une amélioration de leur état et réussirent à arrêter le développement de la pathologie. La phycocyanine intervient aussi dans cette activité en s'attaquant aux radicaux libres responsables du cancer (**Vidalo, 2011**).

# Chapitre II Généralités sur la confiserie

#### **II- Historique**

La confiserie est née d'une très ancienne tradition gourmande qui utilise d'abord le miel puis, au Moyen Age, le sucre de canne est ajoutés, et à partir du XIXe siècle, le sucre de betterave fut utilisé.

Depuis, les confiseurs n'ont eu de cesse de créer de nouveaux bonbons et de nouvelles spécialités, dont la plupart existent encore aujourd'hui.

Les confiseries ont souvent une histoire, parfois très ancienne, ou plus récente : toutes appartiennent à notre patrimoine gourmand (Georges V, 2004). Les confiseries répondent souvent à des usages qui traduisent un savoir-faire traditionnel. La plupart de ces usages sont « non écrits » et sont connus des seuls confiseurs (Georges V, 2004).

#### II-1. Définition de la confiserie :

Une confiserie est un terme général utilisé pour désigner une variété de produits sucrés préparés à partir de sucres, de sirops et d'autres ingrédients. Les confiseries sont souvent consommées comme des friandises ou des douceurs, et elles peuvent prendre de nombreuses formes, textures et saveurs différentes.

Les confiseries peuvent inclure des bonbons, des chocolats, des guimauves, des caramels, des nougats, des chewing-gums, des sucettes, des dragées, des réglisses, des biscuits sucrés et bien d'autres. Elles peuvent être fabriquées industriellement ou préparées artisanalement.

#### II-2- Composition nutritionnelle

Les confiseries sont des aliments très glucidiques : Elles contiennent 95 à 98 g / 100 g de glucides, et 2 à 5 % d'humidité.

La valeur calorique d'une confiserie sera comprise entre 380 et 395 kcal / 100 g. Les confiseries dans lesquelles on utilise d'autres ingrédients (amandes, lait...), contiennent également des petites quantités de matières grasses provenant de ces autres matières premières.

Quant aux confiseries sans sucres, elles contiennent également 95 g / 100 g de «glucides», mais comme il s'agira de polyols moins énergétiques, la valeur énergétique de ces confiseries sans sucres sera de 228 kcal en moyenne. Ainsi, 2 micro-pastilles sans sucres à la menthe contiennent 0,27 g de glucides, soit seulement 1 kcal ! (Rapport du groupe de travail PNNS sur les glucides, partie 2, mars 2007).

#### II-3-Classification

Les confiseries diffèrent par leur mode de préparation, de découpage, de moulage, ainsi que par le degré de refroidissement du sucre quand il est travaillé. Elles sont donc classées en différentes catégories :

#### II-3-a- Bonbon de sucre cuit :

Ce sont des bonbons constitués par du sucre cuit coloré, parfumé et, le cas échéant acidulé. Il s'agit par exemple des sucettes.

Technologiquement, la dénomination « sucre cuit » est réservée aux produits de la confiserie obtenue par la cuisson très poussée d'un mélange de saccharose (sucre blanc) et de sirop de glucose qui après cuisson se caractérise par l'obtention d'une masse. La formulation des bonbons de sucre cuit est simple : sucre, sirop de glucose, arômes et acide. Le rapport sucre/sirop de glucose varie entre 100/60 à 100/120 selon le type de produit. (Rapport du groupe de travail PNNS sur les glucides, partie 2, mars 2007)



Figure 04 : Les bonbons de sucre cuit (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie)

#### II-3-b- Les gélifiés :

Au XIXème siècle, des confiseurs découvrent que le sucre se mélange très bien avec la résine d'un certain acacia que l'on trouve en Afrique, en Asie et même en Australie. Cette matière première s'appelle la "gomme arabique". Cette résine doit d'abord être nettoyée et préparée avant d'être cuite avec le sucre. En ajoutant des extraits de fruits et des arômes, on obtient d'excellentes friandises **gélifiées** que l'on prend plaisir à "mastiquer". Mais la gomme arabique devenant de plus en plus coûteuse, les confiseurs ont cherché d'autres matières premières ; c'est ainsi que s'explique le développement rapide de la gélatine (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie 2005)



Figure 05 : Les gélifies (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie).

#### II-3-c- -Les chewing-gums

Ils sont obtenus à partir de « gomme base », à laquelle on ajoute du sucre et du sirop de glucose (100/25 à 100/35), des arômes et des colorants. Son humidité est très faible : 2 à 4 %. (Rapport du groupe de travail PNNS sur les glucides, partie 2, mars 2007).



Figure 06: Chewing-gums (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie).

#### II-3-d- Les réglisses :

Extraite d'une racine, la **réglisse** a longtemps été utilisée pour ses vertus thérapeutiques adoucissantes, avant de découvrir sa vocation éminemment plus gourmande, à partir de la fin du XIXème siècle. Les confiseries à la **réglisse**, dures ou souples, se déclinent en une multitude de formes : gommes, pastilles, dragées, rouleaux (surnommés "lacets de bottine"), fourrées, coulées... elles sont appréciées par tous les âges.

Comme Théophraste (botaniste de l'Antiquité) le dit dans son "Historia planétarium", la **réglisse** a la capacité d'étancher la soif lorsqu'on la laisse fondre dans la bouche. Aussi, la légende raconte que l'armée d'Alexandre Le Grand arrivait à survivre sans eau pendant de longues batailles, pour la remplacer, les soldats utilisaient de la **réglisse**... (**Chambre** 

Syndicale Nationale de la Confiserie 2005).



Figure 07 : Réglisses (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie).

II-3-e- La Guimauve : La guimauve, qui appartient à la famille des pâtes à mâcher, est une douceur légère et moelleuse aux multiples formes et couleurs. (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie 2005).



Figure 08 : Guimauve (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie).

#### II-3-f-Les fruits confits:

Ce sont des fruits cuits dans du sirop de sucre auquel on ajoute, pour empêcher la cristallisation, du miel ou plus généralement du glucose. Il s'agit notamment des abricots, poires, prunes, cerises, ananas, écorces d'agrumes...(Les codes d'usages des confiseries-septembre 2010).



Figure 09 : Fruits confits (Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie).

# Partie expérimentale Matériel et méthodes

#### III. Matériel et méthodes

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et de la valorisation des substances bioactives naturelles présentes dans la spiruline. Les chercheurs et les consommateurs sont de plus en plus intéressés par la valeur nutritionnelle de la spiruline, expliquée principalement par sa présence conjointe de fibres, de minéraux et de protéines, ainsi que par ses nombreuses propriétés antioxydantes et biologiques.

# III.1. Caractérisation d'Arthrospira platensis

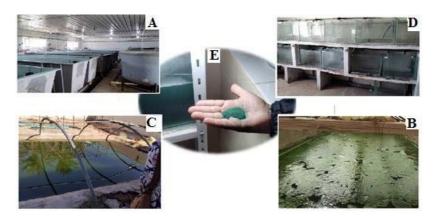
Les analyses ont été effectuées au sein des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'université de BBA et le laboratoire de répression de fraude de Sétif(CACQE).

#### III .1.1.Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé est une cyanobactérie appelée « *Spirulina platensis* » qui a été fournie sous forme séchée par les chercheurs de l'Institut Technologique « Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture » de Bir El Djir, wilaya de Oran.

La souche de Spiruline est d'origine de la région d'Oran ; cultivée initialement dans la même région par les chercheurs et étudiants de l'Institut. La culture de la biomasse de cette souche se fait au niveau des bassins de culture artisanale sous le sol et couvert d'une bâche en plastique, contenant un milieu de culture favorable et sous agitation à température ambiante (25°C et 40°C) dans une serre (**Figure 10- A-C**).

La micro-algue est séchée à l'air libre, à l'ombre, et mise sous forme de poudre, puis stockée à l'obscurité à température ambiante jusqu'à utilisation (**Figure 10 B-D-E**).

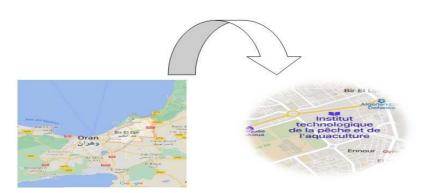


**Figure 10** : Photographies de serre (A) et (C) de bassin de culture avec système d'agitation (B) et de formes séchées et broyée (E) (D) de *Spirulina plarensis*.

#### III .1.2. Localisation et rôle d'institut des technologiques de la pêche et de l'aquaculture

La poudre de spiruline et ramené de l'institut spécialisée en technologique de la pêche et de l'aquaculture (ITPA). L'Institut technologique de la pêche et de l'aquaculture est situé dans la wilaya d'Oran en front de mer en parallèle à la station centrale électrique de Bir El Djir . Le rôle principal d'Institut est :

- ❖ Acquérir de nouvelles techniques de pêche et d'aquaculture.
- ❖ Faire une coordination avec les intervenants universitaires et des chercheurs des moyens de coordination et d'échange entre les secteurs de la pêche et des ressources halieutiques et de l'enseignement supérieur.
- Production des déférents types des poissons et micro algue : comme la spiruline caroline ......ect



**Figure 11 :** Localisation géographique de l'institut technologique de la pêche et de l'aquaculture.

#### III.2. Extraction des principes actifs

# III. 2 .1. Préparation de l'extrait

Selon le protocole décrit par **Sroka**, (**2006**), 20g de *Spirulina platensis* sous forme séchée sont mis dans 200 mL de solvant (éthanol 50%, v/v), le mélange est laissé sur plaque agitatrice à 1000 tours/min pendant 24h à 50°C.

Après filtration, le filtrat obtenu est soumis à l'évaporation à sec dans une étuve ventilée à 40°C, puis lyophilisé et conservé à 4°C pour une éventuelle utilisation.

✓ Le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = [M_1 / M_0] \times 100$$

Avec:

**R** %: Rendement en extraits exprimée en g/100g de matière sèche.

M<sub>1</sub>: Quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

Mo: Quantité de la matériel biologie utilisée pour l'extraction exprimée en g (Abe et al.,

2010).

III.3. Analyses physicochimiques de la poudre de la spiruline :

III.3.1-Humidité

C'est la perte en masse de l'échantillon après chauffage à  $103^{\circ}$ C  $\pm$   $2^{\circ}$ C exprimée en pourcentage de masse. Il consiste à provoquer le départ d'eau par chauffage d'une quantité jusqu'à élimination complète de l'eau (**M.E., 2017**).

5g de la spiruline broyée sont mis dans une étuve à la température de 100°C à 105°C et sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité,

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation lorsque leur poids soit constant.

Expression des résultats

La teneur en matière sèche (MS) est calculée selon la relation suivante.

 $H(\%) = \frac{M1-M2}{P} \cdot 100$ 

Avec:

H%: Humidité.

M<sub>1</sub>: Masse de la capsule + matière fraiche avant étuvage.

M<sub>2</sub>: Masse de l'ensemble après étuvage.

**P**: Masse de la prise d'essai.

III.3.2-Potentiel d'hydrogène pH

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre. Le pH mètre est calibré avec des solutions tampons à pH 4, 7 et 10.

III.3.3. Le taux de cendre (Tc%)

Les cendres totales sont les résidus de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale où

synthétique. Le taux de cendre est déterminé selon **AOAC**, (2000), après minéralisation par voie sèche, dans un creuset en porcelaine, préalablement taré. On introduit 1 g de poudre végétale dans un four à moufle à une température de 800C° pendant 6 heures jusqu'à l'obtention des cendres blanches (toute la matière organique brûle et on ne récupère que la partieinorganique de l'échantillon), on laisse refroidir dans un dessiccateur et on pèse.

Le taux de cendres est calculé selon la règle suivante ;

$$Tc$$
 (%) =  $(M - M') / E \times 100\%$ 

Où

**M**: Masse finale (creuset + cendres totales).

M': Masse du creuset vide.

E: Prises d'essais de la matière.

# III.3.4. Dosage des protéines de par la méthode de Braford (1976)

Bradford et al., (1976), ont développé une méthode basée sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. En milieu méthanoïque acide, ce colorant s'adsorbe sur les protéines et cette complexation provoque un transfert de son pic d'adsorption qui passe du rouge au bleu. Cette adsorption se fait principalement par des liens ioniques avec des acides aminés basiques (arg, his, et lys) et des interactions hydrophobes (acides aminés hydrophobes). C'est une méthode très sensible (2-5 µg de protéines) et très rapide. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes.

#### III .4. Analyses effectuées sur l'extrait

#### III.4.1. Dosage des substances antioxydantes

#### III.4.1.a. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont quantifiés par spectrophotométrie en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est une solution de couleur jaune constituée d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Ce réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Le dosage des polyphénols totaux est réalisé selon la méthode de

#### (Singleton et Rosi., 1965).

La teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait a été déterminé par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (**Dorman** *et al.*,2003). Dans trois tubes à essai contenant 1,2mL d'eau distillée, nous avons introduit 20 μL de l'extrait auquel ont ensuite été ajouté 100μL de réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange a été agité pendant une minute, puis 300 μL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% ont été ajouté. Le volume est ensuite complété avec l'eau distillée jusqu'à de 2mL.

Après 2h d'incubation dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 760nm par rapport à un blanc.

La concentration en composés phénoliques totaux a été exprimé en équivalent milligramme d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg Eq AG/g de matière sèche) en se référant à la courbe d'étalonnage.

#### III.4.1.b. Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été dosés en utilisant l'une de leurs propriétés structurales ; Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et Aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribereau-Gayon.**, 1968).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait a été déterminée par **Brahmi et al.** (2012). Un volume de 1mL d'une solution de AlCl<sub>3</sub> à 2% a été mélangé à un volume égal d'extrait. Après 15mn d'incubation à l'obscurité, la lecture des absorbances a été réalisée à 430 nm par rapport à un blanc préparé sans extrait. La teneur en flavonoïdes est exprimée en équivalent milligramme de quercitrine par gramme de matière sèche (mg EqQ/g de matière sèche) en se référant à la courbe d'étalonnage.

# III.4.1.c. Activité anti-radicalaire DPPH

L'activité anti-radicalaire des extraits a été déterminée en utilisant le radical libre 2,2[-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH). En effet, les composés à activité anti-radicalaire piègent le DPPH en lui cédant un atome d'hydrogène, ce qui conduit à une décoloration qu'on peut suivre par spectrophotométrie à 517 nm (**Popovici et al., 2009**). En effet, la présence des radicaux DPPH donne une coloration pourpre foncée à la solution et qui absorbe fortement à 517 nm.

La capacité des extraits de *spiruline* à réduire le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été évaluée selon la méthode décrite par **Burits et Bucar**, (2000). Le DPPH a été dissout dans 100 ml de méthanol pour préparer une solution mère.

La solution étalon a été préparée en diluant la solution mère de DPPH avec du méthanol pour obtenir une absorbance de  $(0.98 \pm 0.02)$  à 517 nm. Un volume de 100  $\mu$ l de chaque extrait à différentes concentrations a été ajouté à 2,5 ml de solution méthanolique de DPPH diluée.

Le mélange a été agité et maintenu à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 517 nm.

Le pourcentage de l'activité scavenger du radical DPPH de chaque extrait est calculé comme suit :

Activité scavenger du radical DPPH (% ) =  $[(Ac - (At - Ab) / Ac)] \times 100\%$ 

Où

Ac: Absorbance du contrôle; c'est l'absorbance du solvant avec seulement le DPPH.

At: Absorbance du test; c'est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'extrait.

**Ab**: Absorbance du blanc ; c'est l'absorbance de la solution de l'extrait sans le DPPH. Les résultats sont exprimés en IC50 qui est la concentration qui induit 50% d'activité scavenger du radical DPPH.

#### III.4.2. Activités antibactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de spiruline contre les deux souches bactériennes choisies pour le test est évaluée par la technique de diffusion sur milieu solide (ou la méthode des disques) (Osato 2009, Alam et mostahar, 2005).

Cette méthode a le même principe de celui de la réalisation d'antibiogramme. Le but est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique (**Burnichon et Texier, 2003**). C'est- à- dire, l'application de patchs imprégnés de principe actifs ou des puits remplies par le produit à tester sur des milieux de culture ensemencés de microorganisme.

L'activation inhibitrice du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puits ou de disque, elle est considérée comme positive pour tout produit donnant un diamètre d'inhibition supérieure à 8mm (kabouss et al., 2000).

# a) Préparation des extraits

Pour obtenir un extrait brut de la spiruline, on effectue une extraction par macération à froid en mettant la matière végétale séchée en contact avec l'eau distillée (**Figure 12**).



Figure 12 : Photographie de la préparation d'extraits aqueux de la spiruline

Trois macérations ont été effectuées 2% (2g de poudre de spiruline dans 100ml d'eau distillée), 4% (4g de poudre de spiruline dans 100ml d'eau distillée) et 8% (8g de poudre de spiruline dans 100ml d'eau distillée).

La macération avec agitation magnétique à l'abri de la lumière dans une température ambiante ; à 1000 tours/min durant 24 heure, filtration puis conservé dans des flacons à l'abri de la lumière et a température de 4 C<sup>0</sup>.

#### b) Préparation des milieux de culture :

On stérilise la surfusion de milieu de culture (Muller Hinton). A l'aide d'autoclave pendant 15 min à 121°C, puis on le verse dans des boites de Pétri de 4 mm de hauteur et on laisse quelques minutes jusqu'à la solidification (Harrar, 2012).

#### c)Préparation des suspensions bactériennes :

Les différentes souches bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique stérile à une turbidité équivalente à 0,5 Mc Farland.

Chaque souche à tester devrait être ensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice afin d'obtenir des colonies isolées. Après une incubation d'une nuit à 35°C, sélectionnez 4 ou 5 colonies bien isolées avec une aiguille d'ensemencement.

ou une anse et transférez-la colonie dans une solution stérile de sérum physiologique ou un bouillon non sélectif (bouillonMueller-Hinton) et homogénéisez à l'aide d'un vortex. La suspension bactérienne devrait alors être comparée au standard Mc Farland 0,5.

Cette comparaison peut être faite plus simplement si les tubes sont observés contre une feuille de papier blanc sur laquelle des lignesnoires sont dessinées. Le standard McFarland doit aussi être homogénéisé juste avant utilisation. Si nécessaire, la turbidité peut être diminuée en ajoutant plus de sérum physiologique ou de bouillon ou augmentée en ajoutant plus de suspension bactérienne.

#### d)Les souches bactériennes utiliser :

#### ✓ Escherichia -coli :

- La famille des Entérobactéries se définit par les caractères suivants
- Bacilles à Gram négatif (2 à 4 μm de long sur 0.4 à 0.6μm de large) (Barka, 2012).

# ✓ Les staphylocoques :

- Sont des organismes peu exigeant Bacilles à Gram positif
- Ils ont un métabolisme aérobie facultatif et sont faciles à cultiver sur des milieux de culture ordinaires au laboratoire à 37°C (**Bergon, 2016**).

#### e) Méthode de diffusion sur puits

Cette méthode est basée sur la diffusion des substances à tester qui sont imprégnées dans des puits sur un milieu solide ensemencé avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre ces substances et le microorganisme cible. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (**Hellal.**, **2011**).

### f) Application

Préparation des boîtes de Pétrie, en les remplissant avec les milieux de culture : **MH** (Muller-hinton) pour les bactéries et les laisser gélifier. Environ 4 mm de hauteur de milieu deculture.

-Ensemencement des souches de bactéries *Escherichia -coli et Staphylococcus aureus* à l'aide d'un écouvillon stérile pour chaque souche.

- On crosse dans la gélose MH 4 puits dans chaque boite de pétrie on verse environ **30-40** μL d'extrait sachant que le 4<sup>eme</sup> puits et rempli de Léau distillée et chaque puits et remplie

premièrement de gélose mole pour assurer le remplissage d'extrait pour les 2 souche des bactéries pour les différentes concentrations : [2g/100ml, -4g/100ml, 8g/100ml]

- les boîtes de Pétrie-Incubation des boites contenants les souches bactériennes dans une étuve réglée à 37°C
- Lecture des résultats après 24 heures pour les bactéries qui se traduit par une zone transparente autour du puits.
- L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considèré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA et al., 1996).

#### III .5. Caractérisation du loukoum élaborée

La spiruline a attiré l'attention des chercheurs à cause de ses composants et aussi, sa forte teneur en protéine (60-70%). Elle est classé parmi les meilleures sources de protéines dans le monde végétale, plus que celle de soja D'après l'état de l'art, elle est considéré comme source d'énergie pour les enfants pauvres sous alimentés dans les pays en développement, ils ont prouvés que 1 kilogramme de spiruline est équivalent à 1 kilogramme de légumes assortis, La raison pour laquelle l'incorporation de cette micro algue dans les produits alimentaire est une démarche qui a attiré l'attention des chercheurs dans les laboratoire et des industriels des déférentes filières alimentaires.

L'objectif de ce travail est l'incorporation de la spiruline dans une confiserie (Loukoum) pour améliorer sa qualité nutritionnelle et organoleptique et encourager tous les consommateurs de différents âges de les consommer apporter une portion de protéine végétale a travers l'ajout de la spiruline.

On a préparé 05 échantillons de Loukoum avec l'incorporation des différentes quantités de spiruline allant de 00g jusqu'à 22g codées de A jusqu'à E.

# III.5.1. Etapes de préparation de la recette du Loukoum incorporé

#### III.5.1.a. Les conditions de préparation du loukoum incorporé

- o Le produit est préparé dans des conditions stériles et hygiénique
- o La préparation des quantités exacte pour cette recette.
- o Introduire les ingrédients selon l'organigramme des étapes de fabrication.

Ajuster la température exacte du sirop cuit à l'aide d'un thermomètre avant l'incorporation de la poudre de spiruline pour assurer sa qualité après l'incorporation.

#### III.5.1.b. Bilan matière :

Le pourcentage de chaque matière première pour 250g de produit obtenu est enregistré dans le tableau suivant.

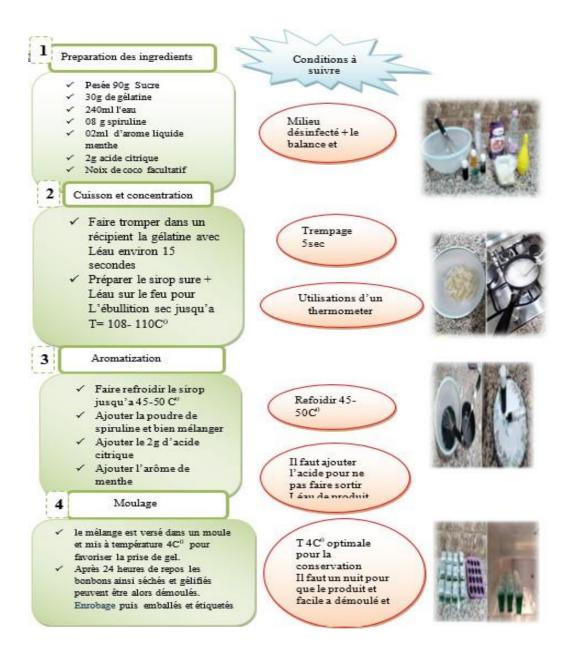
Tableau III- Les composants de recette du Loukoum en g /250g de poids finale

Ingrédients	Sucre	Acide citrique	Arome Menthe	Spiruline	Gélatine
Quantités g/250g	90	2	2	10	30

# ✓ Remarque:

- Le sucre cristallisé est porté à ébullition a 108 C<sup>0</sup>-101 C<sup>0</sup> pour obtenir un sirop mais au moment de l'incorporation de la spiruline, il faudra que la température du sirop diminue jusqu'à45-50C<sup>0</sup>
- Noter bien que Léau utiliser c'est un L'eau traiter et même les ingrédients sont traités pardes processus d'industries bien précisé.

Figure 13 Diagramme de fabrication Etapes de fabrication de Loukoum avec la spiruline



# III.5.2. Analyses du produit fini

#### III.5.2.1. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques se sont focalisées sur la détermination du taux d'humidité, d'acidité, des sucres totaux et ainsi de terminé le teneur en matière grasse et le taux de protéine apporté par l'incorporation de poudre de spiruline afin de valoriser le produit fini et illustré ses bien fait pour notre consommateur et même pour notre marché industriel.

#### III.5.2.a. On a préparés 05 échantillons codée d'A-E destinés pour les analyses

physico-chimiques du loukoum à la maison et microbiologiques avec des quantités de poudre de spirulines incorporée de 0 g jusqu'a 20 g.

#### III.5.2.1.a- Humidité

**Selon la méthode officielle (AOAC 925, 45),** 2-5g de prise d'essai sont séchés dans une capsule plate 2 h à 70 °C sous pression 50 mm Hg (6,7 kPa). Purger le four avec un courant d'air (séché en passant à travers du CaSO<sub>4</sub> anhydre, du P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ou un autre déshydratant efficace) pendant le séchage pour éliminer la vapeur d'H<sub>2</sub>O. Retirer le plat du four, couvrir, refroidir au dessiccateur et peser. Re-sécher 1h et répéter le processus jusqu'à ce que le changement de poids entre les séchages successifs à des intervalles de 1 h soit de 2 mg.

#### III.5.2.1.b- Taux de Cendre

Selon la méthode officielle AOAC920.181 pour mesurer le Cendre de miel et produits de confiserie.

Peser 5 à 10 g du produit dans un plat en Pt enflammé et pesé. Placez sous une lampe IR de 375 watts avec une entrée de tension variable et augmentez lentement la tension appliquée jusqu'à ce que l'échantillon de test soit noir et sec et qu'il n'y ait aucun risque de perte par formation de mousse. Cendres au four à 600°C jusqu'à poids constant (une nuit). Refroidir et peser

✓ La Teneur en cendre en % est calculée selon la règle suivante :

Taux de cendre 
$$\% = (M - M') / E \times 100\%$$

Avec:

✓ M: Masse finale (creuset + cendres totales). (g)

✓ M': Masse du creuset vide. (g)

✓ E : Prises d'essais de la matière. (g)

# III.5.2.1.c- Mesure de pH

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H+) contenue dans le corps gras (**Audigié** *et al.*,1984). Le pH mètre a été étalonné par de l'eau distillée à pH = 7. Les électrodes ont été introduites dans la phase aqueuse de Loukoum incorporé, lorsque la lecture devient constante, lire et noter la valeur du pH indiquée.

# III.5.2.1.d. Mesure de matières grasses (Selon la méthode officielle (AOAC963.15),

Préparer l'échantillon pour essai après pesez avec précision 3 à 4 g du loukoum dans un bécher de 300 à 500 ml. Ajouter lentement, tout en remuant, 45 ml d'H <sub>2</sub>O bouillante pour donner une suspension homogène. Ajouter 55 ml de Hcl environ 8M et quelques copeaux de SiC dégraissés ou un autre agent antichoc, et remuer. Couvrir d'un verre de montre, porter lentement à ébullition et faire bouillir doucement 15 min. Rincer le verre de montre avec 100 mL H<sub>2</sub>O. Filtrer le digestat à travers 15 cm de papier cannelé moyen S&S 589, ou équivalent.

- ✓ Rincer le bécher 3 fois avec H 2O. Poursuivre le lavage jusqu'à ce que la dernière partie du filtrat soit exempte de Cl comme déterminé par l'ajout de 0,1 M AgNO<sub>3</sub>.
- ✓ Transférer le papier humide et l'échantillon d'essai dans une cartouche d'extraction dégraissée et sécher 6 à 18 h dans un petit bécher à 100 °C. Placez le bouchon de laine de verre sur le papier.

Ajouter quelques copeaux anti-chocs dégraissés à 250 mL d'Erlenmeyer et sécher 1 h à 100°C. Refroidir à température ambiante dans un dessiccateur et peser. Placer le dé à coudre contenant l'échantillon d'essai séché dans le soxhlet, en le soutenant avec des spirales ou des billes de verre.

Rincer le bécher de digestion, le bécher de séchage et le verre de montre avec trois portions de 50 ml d'éther de pétrole et ajouter les lavages au dé à coudre. Échantillon d'essai digéré par reflux pendant 4 h en ajustant la chaleur de sorte que l'extracteur siphonne 30 fois. Retirer la fiole et évaporer le solvant sur un bain de vapeur. Fiole sèche à 100–101°C jusqu'à poids constant (1,5–2 h)

-Refroidir dans un dessiccateur à température ambiante et peser. Un poids constant est atteint lorsque des périodes de séchage successives d'une heure montrent une perte supplémentaire de moins de 0,05 % de matières grasses.

Matière grasse % = [(P2-P1[)/PE MSa]\*100]

#### Avec:

- P<sub>1</sub>: poids du ballon vide (g)
- P<sub>2</sub>: poids du ballon (g) après séchage a étuve 101-105C <sup>0</sup>
- PE :prise d'essai en (g)
- MSa: % de MSa/100

#### III.5.2.1.e- Mesure des Sucre totaux :

Selon la méthode officielle Détermination des sucres réducteurs : méthode Bertrand (Réf : NA 2277)

Dans une fiole de 250ml : mettre l'échantillon à analyser +150 ml d'eau distillée tiède,02 ml carrez I, 02 ml carrez II, laisser reposer pendant 15 min.

- ✓ Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 250 ml, agiter par retournement
- ✓ Filtrer dans un erlenmeyer : prélever 20 ml de filtrat, ajouter 20 ml réactif ajouter 20 ml de réactif B,porter à ébullition pendant 03 min, refroidir immédiatement sous un courant d'eau.
- ✓ Filtrer la liqueur sur un creuset filtrant N° 04 en se servant d'une pompe à vide
- ✓ Laver les oxydes 03 fois avec de l'eau distillée en jetant l'eau.
- ✓ Dissoudre l'oxyde de cuivre avec 30 ml de sulfate ferrique  $(F_{e2}(SO_4)_3)$  dans un autre erlenmever.
- ✓ Laver le filtre avec de l'eau distillée.
- ✓ Titrer le filtrat avec une solution de KMnO₄ à 0.1 N jusqu'à coloration rose persistante.

  Attendre 30 sec si la coloration disparaitre continuer de titrer. (Annexe 05-b)

La Teneur en sucres en % est calculée selon la règle suivante :

Sucres Totaux 
$$\% = \frac{\times .222222.112222}{pe.2222.1122222}$$

x: la quantité de saccharose en mg qui est donnée par la table en fonction de la chute de burette.
Pe: la prise d'essai.

#### III.5.2.1.f- Mesure du taux de protéine

### Selon la méthode officielle pour déterminer le taux de protéine de (Bradford)

La méthode de dosage de la teneur totale en protéines est basée sur la capacité de fixation aux protéines du colorant Coomassie bleu brillant G-250, cependant que son maximum d'absorption se déplace de 465 nm à 595 nm.

- ✓ Un flacon contient 500 ml de la solution réactionnelle prête à l'emploi Conservée au réfrigérateur entre +2 et +8 °C, la solution est utilisable pendant au moins 2 ans. L'utilisation minimum est d'environ 12 mois à température ambiante.
- ✓ 0.5g de matière à analyser dans mortier +5ml d'eau distillé
- ✓ Broyage pour obtenir une suspension
- ✓ Filtré la suspension avec le papier de Wattmen 09.

<u>Chapitre III</u> <u>Matériel et méthodes</u>

- ✓ Complèter le volume jusqu'à 10ml.
- ✓ 0.2 ml de solution à analyser +2ml de réactif de Bradford préparer avant.
- ✓ Agitation des tubes au vortex [Extrait +étalon].
- ✓ Aprés 5 min, le dosage se fait avec spectromètre a longueur d'onde égale 595nm
- ✓ L'étalonnage de spectromètre se fait avec solution 0.2ml de Léau distillé +2ml de réactif de Bradford
- ✓ La quantité de protéine et calculer en comparons avec la courbe standard de BSA (voir l'annexe)
- ✓ L'équation de la courbe est la suivante :

Y= ax +b (mg/g de Matière)

# III.5.2.2. Analyses microbiologiques du Loukoum

# III.5.2.2.a. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux (NF V08-051).

Le milieu utilisé pour la recherche et dénombrement des coliformes présents dans la spiruline est la gélose VRBL.

Pour chaque dilution : 2 séries de 2 boîtes sont ensemencées Pour chaque dilution, 4 boîtes de pétri sont ensemencées de la même manière que celle ensemencées pour la recherche de la FMAT (soit un ensemencement par incorporation dans la masse et en double couche). Deux d'entre elles sont destinées à la recherche des coliformes totaux, tandis que les deux autres sont destinées à la recherche des coliformes fécaux.

#### **Incubation**

Pour les coliformes totaux : incubation de deux boîtes par dilution à 30°C durant 24-48-72h. Pour les coliformes fécaux : incubation de deux boîtes par dilution à 44°C durant 24-48-72h.

# Lecture des résultats

Réalisée tous les jours (3 lectures).

# III.5.2.2.b. Recherche et dénombrement des levures et des moisissures

Le milieu utilisé est le PDA (La gélose dextrose à la pomme de terre) additionné de chloramphénicol. 1 boîtes par dilution est ensemencée puis incubée pendant 4 à 5 jours à 20-25°C.

#### Lecture des résultats

Les levures donnent des colonies blanches et les moisissures donnent des colonies pigmentées (caractéristiques des moisissures).

#### III.6. Analyses sensorielles du Loukoum incorporé

L'analyse sensorielle est l'ensemble des méthodes permettant d'évaluer les qualités organoleptiques d'un produit. Elle se déroule en deux étapes à savoir

- ✓ L'épreuve descriptive : qui consiste à déterminer le profil sensoriel de l'échantillon (description de la qualité organoleptique).
- ✓ L'épreuve hédonique : qui permet d'évaluer l'appréciation du produit par les consommateurs (Rakotonantoandro L.E., 2010)

Le jury est constitué de 30 dégustateurs que l'on peut qualifier "neutres", comme il a été montré par **AFNOR** dans sa définition, une personne non entrainée consommant un produit ou susceptible de le consommer. Les participants n'ont aucune notion préalable sur le produit.

#### **A-** Tests descriptifs:

Nous avons fait appel à des stagiaires, des enseignants et des fonctionnaires de l'institut de formation professionnelle et des civils.

Les dégustateurs sont âgés de 27 à 50 ans. Ils étaient tous motivés pour participer au test et répondre aux questions, notée dans le formulaire utilisé dans le teste descriptif.

Cette épreuve nécessite au moins un intervalle de 06 critères. Classés en six catégories qui sont : la couleur, l'odeur, la saveur, la consistance, la texture et l'arrière-goût.

Les résultats sont notés avec une échelle de 0-5 pour chaque critère (voir l'annexe)

### **B-** Tests hédonique:

En général, les sujets qui sont de nombre de 30 donnent leur point de vue sur l'acceptance ou non du la confiserie préparée soit avec ou sans spiruline.

✓ La démarche réalisée lors de l'élaboration de l'épreuve est résumée par des codes chaque image montre leur avis pour l'acceptabilité de produits. (**Figure 14**)

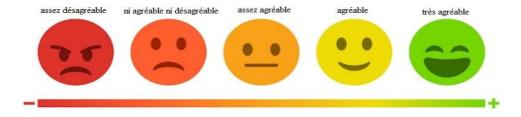


Figure 14 : Codes significatifs d'acceptabilité de produit

# Résultats et discussion

#### VI. Résultats et discussion

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche et la valorisation des substances bioactives naturelles contenues dans une microalgue, appelée spiruline.

L'une des tendances les plus importantes actuellement, est l'incorporation d'ingrédients naturels dans les aliments, telle que la Spiruline « *Spirulina platensis* ». La spiruline est par ailleurs reconnue comme l'aliment le plus nutritif ; elle a été présentée comme le meilleur aliment pour l'avenir « best food for the future » lors de la conférence des Nations Unies sur l'Alimentation Pour l'UNESCO, c'est : « l'aliment idéal et le plus complet de demain » et pour la FDA « l'une des meilleures sources de protéines ».

Dans cette démarche, et afin de recueillir des informations sur cette micro-algue, différents essais et méthodes analytiques ont été réalisées sur le plan pratique, pour une éventuelle quantification des composés antioxydants de la spiruline et de leurs activités ainsi qu'une caractérisation du Loukoum incorporée de Spiruline car la spiruline est souvent utilisée comme complément alimentaire en raison de sa teneur élevée en nutriments. Elle peut aider à combler les carences nutritionnelles, surtout chez les personnes ayant un régime alimentaire limité ou déséquilibré.

# IV.1. Résultats de la composition physico-chimique de la spiruline

Les valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques de la spiruline évaluée sont indiquées en **tableau IV**. Les paramètres tels que l'humidité, le pH, les cendres, la matière grasse, les protéines, les glucides totaux, les sucres réducteurs sont évalués.

**Tableau IV**: Composition physico-chimique de la spiruline

Paramètres	Spiruline
Humidité %	7,41 %
Cendre%	1,41 %
Protéines %	64 %
pН	7,98

#### IV.1 .1. Le taux de l'humidité

La mesure de la teneur en eau est définie comme étant la quantité en grammes d'eau rapportée à 100g de substances sèches.

Il convient souvent de contrôler la teneur en eau des aliments au cours de leurs transformations et au cour de leur consommation.

L'humidité de la spiruline est l'ordre de 7,41%. Il est généralement admis que le taux d'humidité résiduel limités des algues se situe vers 8%, au dela duquel la croissance des moisissures et des bactéries devient possible (**Belay,1997**).

Ce pourcentage est inférieur à celui donné par **Razafindrajaona et al. (2006)**, qui est de 10%. Ceci prouve que le séchage été bien fait pour éliminer le teneur en eau qui pose un problème lors de son utilisation comme aliments de base pour éviter toute altération microbienne de la poudre de la micro algue et augmente ainsi la durée de conservation et aussi la conservation dans un milieu sec. (**Becker**, **1995**)

#### IV.1.2. Le taux de cendre

Ils sont classés en deux catégories selon l'importance de l'apport nécessaire en rapport avec leurs teneurs dans l'organisme. Les macroéléments sont les éléments minéraux majeurs à rôle constitutif. Les oligoéléments ou éléments à l'état de traces sont nécessaires à doses infimes et jouent plutôt un rôle fonctionnel (**Siret, 2010**).

Le taux de cendre est de l'ordre de 1,14%. Cette valeur est inférieure à celle recommandées par **Jourdan.** (2011) qui est entre 7% et 10%. Cette différence est probablement due à la différence des conditions de culture de la spiruline et aussi la technique de séchage et la nature la nappe aquatique.

#### IV.1 .3. Le taux de protéine

Le taux de protéine obtenue de la spiruline est de 64%, Il ressort des résultats trouvés que la spiruline est un bon aliment riche en protéine d'origine végétale.

D'après **Razafindrajaona et al. (2006)**, la valeur nutritionnelle de la spiruline de Madagascar (*spirulina platensis* var. *Toliara*), a montré que cette variété possède : 7.22% de lipide. 59,3 de protéine, 14 à 24 % de glucides et une énergie calorifique de 387Kca/100g soit 3,87 Kcal/g.

Selon **Bensehaila et al.**, (2015), qui ont mesuré une teneur en protéines de 60.32%, c'est un taux inférieur à 64% qui a été observé dans cette étude. La variation dépend des conditions climatiques et composition nutritionnelle de milieu de la culture et des techniques de production.

La composition de la spiruline varie en fonction des conditions climatiques et composition nutritionnelle de milieu de la culture et des techniques de production. D'autre part, par comparaison avec d'autre source de protéine végétales, elles sont toutes moins riche.

Néanmoins, la teneur en protéine de spiruline étudiée présente une valeur 64% bien supérieure à celle de certaines graines de légumineuses : La teneur en protéines du soja atteint35% (**Huignard et Glitho, 2011**), celles des lentilles des pois cassés 25%, féverole 25 à 35% (**Larralde et Martinez, 1991**), Pois chiche 21,2 à 26,2% (**Jambunathan, 1991**).

Tandis que La dose recommandée par OMS pour la consommation de spiruline en jusqu'à **4g** par jour leur valeur énergétique d'environ **8Kcal.** 

#### IV.1 .4. Le PH

Le pH est le potentiel d'hydrogéne, il représente la concentration en ions H<sup>+</sup> dans le milieu. La valeur du pH de notre échantillon est de : 7,98. Cette valeur montre que la spiruline est un aliment basique qui nécessite des conditions spécifiques pendant le stockagepour éviter la prolifération des micro-organismes. La bonne conservation de la spiruline séchée, ce qui lui permet d'être conservé pendant une année (**Rakotozandiny** *et al.*, 2000).

# VI.2. Extraction et dosages des composés phénoliques

**Le tableau V** résume le rendement en (%) et les teneurs en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, en mg/g d'extrait sec, enregistré pour l'extrait éthanolique (50% v/v) de *Spirulina platensis*.

**Tableau V :** Rendement d'extraction et teneurs en composés phénoliques de l'extrait éthanolique de *Spirulina platensis*.

	Extrait sec
Teneur en composés phénoliques totaux (mg Eq AG/g)	$18,45 \pm 0,34$
Teneur en flavonoïdes (mg Eq Quercétine/g)	7,3±0,26
Rendement d'extraction (%)	13,60 %

# VI.2.1. Rendement d'extraction par macération alcoolique

L'extraction de polyphénols est effectuée avec l'éthanol. Mohsen et Ammar. (2009), ont prouvé que l'éthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques. En outre, les acides phénoliques très polaires (acides benzoïques et cinnamiques) ne peuvent pas être extraits complètement avec des solvants organiques, l'eau contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure l'extraction des composés phénoliques (Lapornic et al., 2005).

Le résultat de rendement d'extraction par macération obtenu dans ce travail, en utilisant

l'éthanol 50%, comme solvant est de 13,6%. Il est nettement supérieur aux résultats enregistrés par **Shalaby** *et al.*, (2013) qui ont obtenu des pourcentages de rendement des différents extraits de **S.** *platensis* qui varient selon la nature des solvants utilisés et leur concentration ; eau 100% (4,2 %), méthanol 100 % (7,3%), méthanol 50% (2,5%).

Cependant, notre résultat est très similaire à celui révélé par Bensehaila, 2016 qui a obtenu un rendement de 13,65%, et se trouve dans la gamme des valeurs données par Hanaa et al. (2009), qui est entre 10,14 à 16,35% pour *Spirulina maxima*, ces auteurs ont adopté le même solvant d'extraction dans leurs études. Hettal et al. (2014), ont également déterminé une valeur similaire (14,68%).

#### VI.2.2. Teneurs en antioxydants

#### VI.2.2.1. Teneur en polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont également reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, ce qui signifie qu'ils peuvent aider à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres et le stress oxydatif. En agissant en tant qu'antioxydants, ils peuvent contribuer à la prévention de certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies neurodégénératives (Colla et al., 2007).

La teneur de l'extrait phénolique a été quantifiée à partir de la courbe d'acide gallique. La teneur obtenue dans cette étude  $(18,45 \pm 0,34 \text{ mg Eq AG/g ES})$  se raproche de celles trouvées par **Lafri et al.** (2013) qui ont eu des résultats compris entre 4 et 22 mg/g pour la souche algérienne et entre 6 et 25 mg/g pour la souche tunisienne.

En outre, **Colla et al.** (2006), ont démontré que la température est importante pour la production de biomasse, de protéines, de lipides et de composés phénoliques par S. platensis. Une température de 35°C a un effet négatif sur la production de biomasse, mais un effet positif sur la production de protéines, lipides et composés phénoliques. En effet, il a été constaté, qu'à cette température ; il y avait une augmentation significative de la quantité de composés phénoliques synthétisés par les cellules (4,99 mg/g). Ainsi, la teneur en composés phénoliques dépend de la biomasse, d'ailleurs **Abeer.** (2015) a montré une teneur considérable en composés phénoliques totaux variant entre 26,75 et 40,45 mg/g pour *Spirulina platensis*.

#### VI.2.2.2. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont considérés comme des agents antioxydants très puissants en raison de leur structure, se rapportant en particulier à la position des groupements hydroxyles sur les

noyaux aromatiques, et la capacité des composés aromatiques à supporter une délocalisation électronique. Ces dernières années, un intérêt particulier a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes (Wang et al., 2010).

La quantité en flavonoïdes trouvée dans ce présent travail (7,3±0,26 mg EQ/g ES), ce résultat est nettement supérieur à celui trouvée par **Hettal et al.** (2014), qui a obtenu un contenue en flavonoïdes de (2,9 mg/g), qui ont procédé à une extraction par macération à froid dans du méthanol 70%.

Selon **Hanaa et al. (2009)**, l'ajout de phénylalanine au milieu de culture améliore la production de composés phénoliques totaux et y compris les flavonoïdes. Les quantités les plus élevées en composés phénoliques (16,96 mg/g M.S) et en flavonoïdes (5,12 mg/g MS) ont été obtenues en milieu de culture contenant 100 mg/L de phénylalanine, et 3,77 g/ L de NaNO<sub>3</sub> (niveau le plus élevé). Ces résultats ont révélé que les niveaux en composés phénoliques et en flavonoïdes ont augmenté de façon marquée par l'augmentation de la concentration en NaNO<sub>3</sub> combinée avec la phénylalanine en milieu de culture. Par exemple, les quantités en flavonoïdes produites par *S. maxima* cultivée dans des milieux à des concentrations respectivement de 2,5 ; 3,12 et 3,77 g/L de NaNO<sub>3</sub> combinées avec 100 mg/L de phénylalanine étaient de 1,94 ; 3,31 et 5,12 mg/g MS ; cela indique clairement que la phénylalanine stimule la production des composés phénoliques et des flavonoïdes.

Des résultats inférieurs ont été obtenue par **Lafri et al., (2017),** avec un taux de flavonoïdes de 2 ,12 mg EQ /g ES pour la souche algérienne et 2,9 mg EQ /g ES pour la souche tunisienne.

#### IV.3. Activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Dans ce présent travail, l'activité antioxydante a été déterminée par l'activité scavenger du radical DPPH•.

L'activité antioxydante des différents extraits *d'A. platensis* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune à 517 nm. L Le DPPH est un radical libre organique, toujours utilisé comme un réactif pour évaluer l'activité anti radicalaire des antioxydants (**Molyneux.,2004**).

Le résultat de l'activité anti-oxydante de notre extrait éthanolique de *Spirulina platenesis* est de **58%.** L'extrait éthanolique de spiruline a une activité antioxydante puissante qui est montrée par le changement de couleur de la solution DPPH de la couleur violette à une couleur jaune.

**Patil et al. (2007)**, ont obtenu une activité antioxydante variant de 0,17 à 51,94% selon que la concentration de spiruline varie de 0,3 à 15 mg/ml.

#### VI.4. Activité antibactérienne de la spiruline

La qualité hygiénique de la spiruline est une importance pour évaluer sa qualité marchande. Plusieurs études expérimentales ont montré que *Spirulina platensis* a une activité antimicrobienne.

L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considèré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA et *coll.*, 1996).

L'activité antimicrobienne est révélée par l'absence ou la présence d'une zone d'inhibition autour du disque identique à la gélose stérile.

Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm
- ❖ Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm
- ❖ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- ❖ Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm (Ponce et al., 2003).

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du puits ou du disque de papier imprégné par les extraits étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Les résultats obtenus par la spiruline concernant l'activité antibactérienne produite par la cyanobactérie contre deux bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*), et Gram négatif (*Escherichia coli*) en utilisant trois concentrations de la spiruline (2% ,4% et 8%) sont présentés dans le tableau VI.

L'extrait de la spiruline ont eu un effet positif, exprimé par la présence de zones d'inhibition, vis-à-vis d'*E. coli* plus avec un diamètre de **10mm** pour l'extrait avec **8**% de spiruline et aucune zone d'inhibition vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de **8 mm.** D'une manière générale lorsque la concentration de l'extrait est augmentée, une activité inhibitrice accrue est observée. Des résultats similaires ont été trouvés pour l'extrait aqueux de la spiruline par **Sivakumar et Santhanam**, **2011**.

La présence d'une activité antibactérienne a été soutenue par les composés actifs contenus dans l'extrait aqueux de la spiruline. Amri et al., (2017), ont signalé que la culture de la spiruline contient phénoliques, flavonoïdes, stéroïdes, terpènes. George et al. (2017) ont déclaré que les alcaloïdes ont la capacité antibactérienne. Selon Abedin et al., (2019), Il existe

de nombreuse études sur la Spiruline possèdant la capacité d'inhiber les deux Gram négatives et Gram-positives, mais surtout au gramme bactéries positives.

Spiruline platensis a été rapporté avoir également une activité antimicrobienne signalé par **Demule et al.** (1996), plusieurs extraits de *Spirulina platensis*, obtenus par différents solvants présentaient différents degrés d'activité antimicrobienne sur les organismes à Gram positif et à Gram négatif (Raina et al, 2008).

Plusieurs travaux de recherche déjà effectués. On cite parmi eux, les travaux de Chakraborty et al., (2015), qui porte sur une étude comparative de l'activité antimicrobienne des extraits de *Spirulina platensis* contre des bactéries Gram positive et Gram négative. Dans cette étude, les résultats obtenus ont permis d'observer une activité antibactérienne claire des extraits de spiruline à des doses allant de 1,6 à 1,9 mg/ml, à travers les zones d'inhibitions observées contre *E. coli*, *Staphylococcus aureus* et bien d'autres bactéries telles que *Staphylococcus epidermidis* et *Klebsiella Pneumonia*.

Tableau VI: Les résultats de l'activité antibactérienne

	Concentration d'extrait g/100ml	Diamètres d'inhibition [mm]	Zone d'inhibition
E. coli	2g/100ml 4g/100ml	PZ PZ	E.C
Gram-	8g/100ml	10mm	
	G		10mm
Staphylococcus	2g/100ml	PZ	
aureus	4g/100ml	PZ	
Gram+	8g/100ml	PZ	

**PZ**: pas de zone

En parallèle, on a utilisé comme témoins le puit de l'eau distillé coulée par la gélose moule ont confirmé les valeurs du diamètre obtenu dans le test de sensibilité des deux souches étudiées, à savoir **10 mm de diamètre** pour *E. coli* et **0mm** pour *Staphylococcus aureus*. Le

témoin négatif quant à lui, n'a exercé aucun effet sur la croissance de la bactérie

La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

L'activité antibactérienne est due à la présence de composés bioactifs dans l'extrait de S. platensis (les tanins, les coumarines, les alcaloïdes, les terpénoides, les saponosides) ainsi la composition des acides gras (Santoyo et al., 2006) et d'autres composés volatiles tels que les polyphénols (Herrero et al., 2006).

# IV.5. Caractérisation du Loukoum formulé

La figure 15 représente des photos du loukoum préparé avec la spiruline



Figure 15: Photographies du loukoum avec spiruline

#### IV.5.1. Analyses physico chimiques du loukoum incorporé de spiruline

Pour les analyses physico chimiques du produit fini, ils ont été réalisé au niveau du laboratoire de répression des fraudes (CACQE) –Sétif, 5 échantillons ont été préparés et codées de A-B-C-D-E, avec différentes quantités de poudre de la spiruline (0g/5g/10g/15g/20g).

On a choisi après d'incorporation de spiruline 03 échantillons pour l'analyse. Le tableau cidessous résume les résultats des paramètres analysés.

Echantillon	G de spiruline	Humidité	Cendre	MG	Sucre
	incorporé en (g )	%	%	%	totaux
					%
A	0g	48.78	0.13	2.06	52.97
С	10g	46.36	0.16	2.16	52.25
D	15g	47.10	0.18	2.20	72.00

**Tableau VII :** Récapitulation des résultats des analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques se sont focalisées sur la détermination de :

- Taux d'humidité
- Taux des sucres totaux
- Taux de cendre
- Taux de matière grasse

En effets, aucune norme n'est en vigueur sur les confiseries à l'exception des produits de la chocolaterie. De ce fait, aucune comparaison ne peut être effectuée.

La seule référence exploitée est la bibliographie : le taux de sucres réducteurs des sucres cuits doit se situer entre 15 et 40% et la teneur en eau est d'environ 20% pour les bonbons gélifiés, mais aucune référence n'a été trouvé sur le loukoum. Un léger abaissement de la teneur en eau ne peut être que bénéfique pour le produit, à condition que ceci ne change pas sa qualité organoleptique, puisque le risque de prolifération microbienne est ainsi diminué. En ce qui concerne le taux de saccharose, il se révèle être le principal composant des bonbons donc ce taux doit largement excéder les 50%.

D'après les résultats obtenus, les analyses de produit finis, on a l'humidité est comprise entre **46.36** et **48.78%**, une partie de l'humidité sera absorbée après collage et recristallisation des bonbons. Alors que notre Loukoum est préparé avec un sirop cuit à température 108-110C<sup>0</sup> mais l'importance de l'activité est considérable car elle conditionne la stabilité du bonbon.

Quand l'humidité est élevée, la consistance des bonbons est inversement proportionnelle à l'humidité. Plus celle-ci est élevée, plus le bonbon est mou donc moins consistant et influence considérablement la stabilité du produit notamment celle de la texture (durcissement ou ramollissement) et la stabilité microbienne.

Le taux de cendre il est de 0.13-0.18 %, le taux de cendre représente la quantité totale en sel minéraux présents dans un échantillon. Plus on augmente la quantité de poudre, plus il y'a une augmentation de sel minéraux donc on a un enrichissement de cette confiserie.

Le taux de matière grasse est de 2.06-2.20 %. Le taux de matière grasse du Loukoum sans spiruline est 2,06%, plus on introduit la spiruline plus il y'a une augmentation de la matière grasse,15g de spiruline, on a une augmentation avec 2,20%.

L'analyse du tableau VI, montre que le taux de sucre totaux augmente avec l'augmentation de la quantité de la spiruline ajouté. On a un taux de 72 % de sucre totaux avec 15g de spiruline et 52,97 % sans spiruline. Par ailleurs, l'addition de la spiruline pourrait être à l'origine de l'augmentation de la teneur en sucres totaux et dans la stabilité microbiologique du produit élaboré dit Loukoum. Les données bibliographiques indiquent a ce sujet, que la spiruline renferme 19,59% (Simpore *et al.*, 2006).

# VI.5.2. Détermination du pH

La valeur du pH des bonbons caractérise leur qualité finale. En effet, une teneur élevée en sucre devrait être associée à un pH bas pour garantir la conservation des bonbons.

**Tableau VIII :** Résultats de l'analyse d'acidité des échantillons du loukoum

Echantillons	A	В	С	D	E	Moyenne	Normes
Acidité	5.01	4.93	5.18	5.18	5.18	5.09	/

Pour la majorité des échantillons on a une valeur 5.01-5.18 avec une moyenne générale de 5.09, sa traduit l'exactitude de mesure des ingrédients et l'addition d'acide à une température trop élevée, tend à provoquer l'inversion du saccharose présent, ce qui est néfaste pour la conservation. Aussi les acides et les arômes sont ajoutés directement au sirop cuit pendant qu'il se refroidit. L'addition d'acide citrique n'a pas augmenté l'acidité du loukoum préparé. En effet, toutes les valeurs tournent autour de la moyenne bonbons acidulés.

#### VI.5.3. Teneur en protéines du produit formulé

Après avoir enrichis le loukoum avec de la spiruline, on a comparé les teneurs en protéines du produit sans spiruline et avec spiruline en mg de BSA/g ES a l'aide la courbe de BSA (voir l'annexe) de deux recette identique avec une seule différence c'est bien l'addition de spiruline 10g/250g.

La figure 16 représente les résultats trouver pour le dosage de protéine pour le loukoum simple sans spiruline et loukoum avec spiruline.

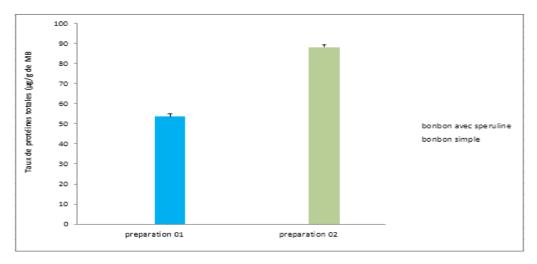


Figure 16 : Résultats de dosage de protéine méthode de Bradford.

Le taux de protéines dans la spiruline peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment les conditions de culture et la qualité de la spiruline. En général, la spiruline est considérée comme une source de protéines très riche. La teneur en protéines est un critère important d'appréciation de la qualité nutritionnelle du produit fini. En ce qui concerne le loukoum enrichi en spiruline, une hausse significative du taux de protéines est constatée, rappelant que cette élévation en protéines de 33 mg/g est obtenue par l'incorporation de seulement 10 grammes de biomasse dans 100 g de bonbons préparés, ce qui atteste de l'efficacité de l'ajout d'un minimum de biomasse de spiruline pour augmenter le taux de protéine dans le produit fini.

L'aspect nutritionnel représente un facteur primordial dans cette étude. En effet, le déficit constaté en protéines particulièrement dans la confiserie peut être comblé par l'addition de la spiruline surtout sa qualité nutritionnelle et sa teneur élevé en protéines peut être bénéfique pour la santé de nos enfants car ils présentent la tranche d'âge la plus importante qui consomment le plus les bonbons et les confiseries.

# VI.6. Analyses microbiologiques du Loukoum formulé

Les analyses microbiologiques effectuées sur le loukoum sans spiruline et avec spiruline sont regroupées dans le tableau suivant

Tableau IX : Résultats des analyses microbiologiques du Loukoum

Halkoum	Les germes	Résultat	Critères	Signification
Loukoum sans	Coliformes totaux	Abs	10 <sup>2</sup> UFC/ml	ВРН
spiruline	Levure et moisissures	8.18×10		

		UFC/ml		
Loukoum avec	Coliformes totaux	Abs	10 <sup>2</sup> UFC/ml	Alteration
spiruline	Levure et moisissures	8.40×10		
		UFC/ml		

Les résultats sont conformes aux critères donnés et l'échantillon du loukoum analysé a une qualité satisfaisante. Le produit peut donc être pris en toute sécurité. La bonne qualité microbiologique de la spiruline sèche et même des ingrédients utilisés de bonne qualité indique aussi que notre produit fabriqué dans de bonnes conditions d'hygiène conformes avec les normes établies dans le **JORA**. (1998)

L'absence des germes de contamination fécale (coliformes fécaux, coliformes totaux) et absence totale des germes pathogène (*staphylococcus aureus*) et même le nombre trouve de levures et moisissures indique que les échantillons ne présentent aucun danger pour les consommateurs.

# VI .7. Analyses sensorielles du loukoum incorporé

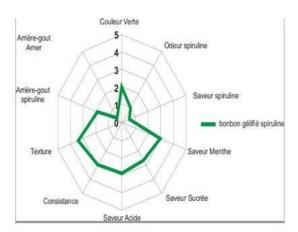
Quand on parle de la qualité, tous les secteurs industriels en particuliers le secteur agroalimentaire sont concernés. On peut définir la qualité comme l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un produit ou service qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire les besoins exprimés ou implicites.

Ces besoins exprimés ou implicites peuvent se résumer par l'équation : Q = 4S + 2R = Santé + Sécurité + Sûreté + Satisfaction + Régularité + Rêve suite la dégustation produit.

Comme on le sait, le test descriptif est un test hédonique dans le contexte d'exprimé la réaction subjective sur le produit par les consommateurs, donc on ne peut pas dire que l'ajout de la spiruline avec un pourcentage de 20 % donne du loukoum non préféré par les consommateurs (même si les juges ont commenté déjà sur la couleur foncée par exemple apporté par la poudre de spiruline).

Donc on a effectué un autre test, c'est le test de comparaison simple entre le loukoum témoin avec 0g de spiruline et le loukoum incorporé de spiruline pour bien déterminer l'impact de la concentration de la spiruline sur la texture. Couleur. Gouts ...ect et l'acceptabilité des jurys pour consommer notre produit finis.

Les figure 17 A et 17 B résument les résultats finaux de nos tests sensorielles aprés l'utilisation de la formule (voir l'annexe).



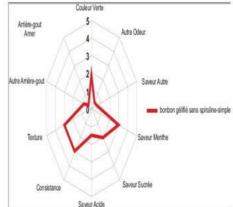
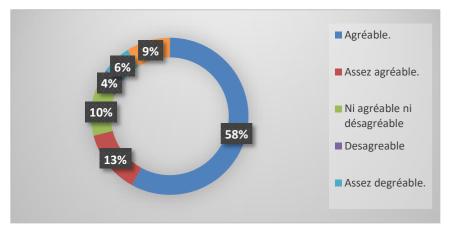


Figure 17 A : Représentation graphique du profil sensoriel du loukoum avec ou sans spiruline



**Figure 17 B :** Représentation graphique des résultats du test de mesure de degré de satisfaction pour loukoum avec spiruline.

- ♣ On a constaté que 85 % des jury trouvent le loukoum acceptable dont la majorité sont des femmes plus 27 ans. Le produit est de ce fait apprécié et accepté par les dégustateurs malgré la petite remarque de couleur foncées du produit causé par la spiruline.
- La majorité trouvent que le loukoum au totale est acceptable à une belle d couleur surtout pour le loukoum simple utilisé comme témoin
- ♣ En ce qui concerne l'odeur, les sujets n'ont reniflés qu'une faible intensité de l'arôme menthe et l'odeur de la plante incorporée dans le produit est à peine sentie.
- Le loukoum ne doit pas avoir un goût ni trop sucré ni trop acide.ni trop amère. Les trois saveurs caractéristiques sont bien équilibrées et sont d'une intensité moyenne. Justifier les 6%, le faible pourcentage peut être négligeable en comparant avec les 58% notée agréable.

- On peut conclus que notre produit est bien ferme et la texture est homogène. Ils présentent un très léger arrière-goût de la gélatine. La saveur amère négligeable de la plante n'est sentie que par un nombre très restreint d'individus.
- En générale, les proportions de non acceptabilité est faible avec un percentage de 4% pour l'appariation désagréable alors notre produit est acceptable et porte en parallèle une sourcede protéine bénéfique pour les consommateurs de toutes les catégories d'âge.

# Conclusion

# Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail porte sur l'étude des effets de l'incorporation de la spiruline dans le loukoum pour l'obtention d'un bonbon enrichi. L'appréciation de ce dernier se manifeste dans ses propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques. En effet, les résultats obtenus sont satisfaisants et en accord avec les retombées attendues puisque les données ont permis de prendre en considération tous les paramètres essentiels pour l'obtention d'un nouveau produit très riche en nutriments tout en gardant les mêmes caractéristiques d'un loukoum consommé par les populations du monde entier.

Le présent travail répond à un objectif d'évaluation de l'activité antioxydante de la spiruline ainsi que son activité antibactérienne vis-à-vis de quelques souches pathogènes. Une dualité fonctionnelle qui fait de lui un ingrédient de grand intérêt pour l'industrie agroalimentaire

L'aspect nutritionnel représente un facteur primordial dans cette étude. En effet, le déficit constaté en protéines dans les confiseries car ils sont considérés comme un groupe alimentaire énergétique mais qui présente une faible valeur nutritionnelle peut être comblé par l'addition de la spiruline, le taux de protéine a augmenté avec l'ajout de la spiruline. C'est une étude qui répond aussi à un autre objectif de valorisation de la spiruline en tant que valeur ajoutée dans un aliment et l'impact de son incorporation sur la qualité gustative et organoleptique du produit obtenu.

En effet, d'après les résultats obtenus :

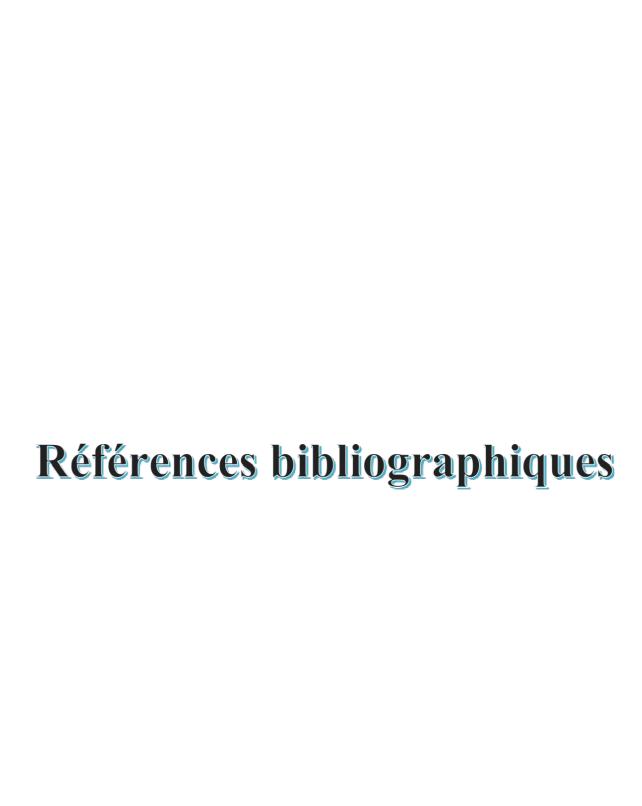
L'activité antioxydante confirmée par le test au DPPH, témoigne que cette microalgue constitue une bonne source d'antioxydants qui pourrait faire d'elle une alternative à certains additifs synthétiques. Les résultats ont montrés aussi une teneur appréciable de la spiruline en polyphénols et une activité antibactérienne affirmée contre certaines souches pathogènes. Un constat certifié par plusieurs références bibliographiques et connaissances scientifiques. Ainsi, les résultats des différentes analyses physicochimiques témoignent de la stabilité du produit.

Les résultats obtenus ont confirmer le pouvoir antibactérien des composés phénoliques de ce micro-algue par l'apparition des zones d'inhibition autour des disques, elle manifeste une activité contre E.coli.

La campagne de dégustation reflète les gouts d'une minorité de personnes, connaisseurs en la matière, a permis de conclure que la présence d'une couleur verte et une odeur rappelant les produits de la mer, pourrait être un critère de taille pour que le nouveau produit puisse trouver une place de choix dans la filière des confiseries et des bonbons.

Vu les résultats obtenus, on peut conclure que l'introduction et l'association de la spiruline dans le loukoum a été une opération satisfaisante et encourageante. Il serait donc souhaitable de poursuivre les recherches dans ce domaine et réaliser d'autres perspectives.

- ❖ L'élargissement du champ de production et promouvoir l'utilisation de la spiruline en Algérie par son incorporation dans d'autres produits alimentaires, tels que les biscuits, les pâtes, les galettes de pain.
- ❖ L'implication de la spiruline dans l'industrie agroalimentaire afin de garantir un libre accès à une nourriture plus saine et moins couteuse et envisager la création de fermes de production utilisant d'autres micro algues à haute valeur nutritionnelle dans le but de lutter contre la malnutrition dans le monde.
- ❖ Envisager une culture de spiruline 100 % naturelle permettant d'avoir des produits biologiques sains et de minimiser l'utilisation des produits de synthèse, de plus encourager la production locale de cette or végétale par les mini et les grands projets d'aquaculture vaste surtout le nôrd sud du Sahara Algérienne.



#### Références bibliographiques

#### A

- ✓ **Alam, S.et Mostahar,S**, (2005). Studies of antimicrobial activity of two synthetic 2',4',6'-trioxygenated flavones.journal of applied sciences,P 327-333
- ✓ **Abe, E., Delyle, S.G., Alvarezl, J.C. (2010).** Extraction liquide-liquide:théorie applications, difficultés Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties Annales de Toxicologie Analytique, 22(2), 51-59.
- ✓ Ali et S.K., Saleh, A.M. (2012). Spirulin An overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 9-15.
- ✓ **Al-ghanayem, A.A.** (2017). Antimicrobial activity of *Spirulina platensis* extracts against certain pathogenic bacteria and fungi. Advances in Bioresearch, 8(6),96-101
- ✓ **Anvar, A.A., Nowruzi, B.(2021).** Bioactive Properties of *Spirulina*. *Microbiale Bioactives*, 4(1), 134-142.
- ✓ **Andreani, C. G., 2012** : Algues et Cyanobactéries, Cours Dumenat Phyto-Aromathérapie, Faculté de Médecine Paris XIII, p 8, 9.
- ✓ **Abedin, S.J.H.; Stephen, H.** GIS framework for spatiotemporal mapping of urban flooding. Geosciences 2019, 9, 77.
- ✓ Amri A., Bird, D. K., Ronan, K., Haynes, K., and Towers, B. (2017): Disaster risk reduction education in Indonesia: challenges and recommendations for scaling up, Nat. Hazards Earth Syst. Sci., 17, 595–612, <a href="https://doi.org/10.5194/nhess-17-595-2017">https://doi.org/10.5194/nhess-17-595-2017</a>, 2017.
- ✓ **AOAC**, (2000). Official Methods of Analysis (13th edn). Association of Official Analytical Chemist: Washington, DC.
- ✓ Audigié C. I., Figarella J. et Zonszain F., (1974). Manipulation d'analyses biochimique,
- ✓ .Avila-Leon, I., Matsudo, M.C., Sato, S., de Carvalho, J.C.M. (2012) Arthrospira platensis

biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source.

✓ **Abeer A., Doaa M., Eman M., 2015:** Antioxidant and Anticancer Activity of Spirulina platensis Water Extracts, Department of Biology, Article, International Journal of Pharmacology 11 (7): 846-851, 2015

В

- ✓ Barry M., Ouedraogo, M., Sourabie, S., Guissou, I.P.(2014). Intérêt thérapeutique de la spiruline chez l'homme : Revue général. *International journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6), 2740-2749. doi: 10.4314/ijbcs.v8i6.33.
- ✓ **Bard,2018** Le Guide Complet de la Spiruline, Article scientifique, https://naturalathleteclub.com/blog/savoir-spiruline-bienfaits,3,5,12,21p.
- ✓ Bensehaila, S., Doumandji, A., Boutekrabt, L., Manafikhi, H., Peluso, I., (2015). The nutritional quality of spirulina platensis of Tamenrasset, Algeria. Afr. J. Biotechnol, 14(19), 1649-1654.
- ✓ **Burnichon, N., et Texier, A. (2003).** L'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques des bactériologie, 1-29.
- ✓ Barka M. (2012). Recherche et Caractérisation d'Escherichia coli Entérohémorragique O157
   :H7 dans les viandes bovines importées en Algérie, thèse de doctorat de l'université d'Oran. 98p.
- ✓ **Becker E.W., (1995).** Microalgae biotechnology andmicrobiology. Cambridge, U.K, Cambridge Univ. Press 293p.
- ✓ **Belay A.** (2002). Mass Culture of *Spirulina* Outdoors The Earthrise Fram Experience. In A, Vonshak (Ed.). *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): *Physiology*, *Cell biology and Biotechnology* (*pp* 252). London, UK: Taylor & Francis.

- ✓ **Belay,1997 Belay.** (2007). Spirulina (*Arthrospira*): production and quality assurancein Spirulina in Gershuin ME et Belay A. *Human Nutrition and Health*. Taylor et francis.
- ✓ **Bellhacen T.O., Bouchabchoub, A., Massoui, M., El Yachioui, M. (2013).** Culture et Production de *Spirulina platensis* dans les Eaux Usees Domestiques. *Larhyss Journal*, *14*, 107-122.
- ✓ **Burnichon N**, **Texier** A, **2003**. L'antibiogramme : Etude de l'activité antibactérienne (in vitro) des extraits aqueux et méthanoliques de l'ail (Allium sativum L) p 144. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 30th September 2019.
- ✓ **Bergon L. (2016).** S. capitis, S. caprae et S. lugdunensis : rôle dans les infections ostéoarticulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Thèse pour obtenir le diplôme de docteur d'en pharmacie, université TOULOUSE III Paul Sabatier faculté des sciences pharmaceutique. 93p.
- ✓ Brahmi F., Abdenour A., Bruno M., Silvia P., Alessandra P., Danilo F., & Dani
- ✓ **Burits M., Bucar F.** (2000). Antioxidant Activity of *Nigella Sativa* Essential Oil, Phytotheraphy.Res., 5(14), 323-328. http://doi.org/10.1002/1099-1573(200008)14:5<323: AID-PTR621>3.0.CO; 2-Q.
- ✓ **M. Bradford A** Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- dye binding. Anal. Biochem., 72 (1976): 248 254.

 $\mathbf{C}$ 

- ✓ Charpy L., Langlade, M.J., Alliod, R. (2008). La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique. Marseille : IRD
- ✓ Clément, 1975 Clément, G. (1975). Production et Constituants Caractéristiques des Algues "Spirulina platensis et Maxima". Annales de la nutrition et de l'alimentation, 29(6), 477-488.

- ✓ Ciferri, (1983). Spirulina, the Edible Microorganism. Microbial. Rev. Vol. 47:551-578.
- ✓ Clément-Larosière, B.(2012). Etude de la croissance de Chlorella vulgaris en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentration élevées de CO2 . Thèse pour l'obtention du Grade de Docteur, École Central des Arts et Manufactures « École Centrale Paris ».
- ✓ Cohen, Zvi. (2002). The Chemicals of Spirulina. In A, Vonshak (Ed.) .Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology.(pp. 252). London, Uk: Taylor & Francis.
- ✓ Colla S.R., M.C. Otterstatter, R.J. Gegear and J.D. Thomson. (2006). Plight of the bumblebee: Pathogen spillover from commercial to wild populations. Biological Conservation 129:461-467.
- ✓ Colla L M, Furlong E B et Costa J A V. (2007). Antioxidant properties of Spirulina (Arthospira) platensiscultivated under different temperatures and nitrogen regimes. Braz. Arch. Biol. Technol., v 50: p.161-167.
- ✓ Chakraborty B., Rajesh P., Pranay P., 2015: Antimicrobial Activity of Spirulina platensis Extract Against Gram Positive and Gram Negative Bacteria- A Comparative Study Available online on <a href="www.ijcpr.com">www.ijcpr.com</a> International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research; 6(4); 212-214, Research Article.

D

- ✓ **Demisu D.G., Benti, B.D.** (2018). Applications of *Arthrospira platensis* as an Alternative Source of Food, Maintaining Nutritional Security and Awareness Creation; there by Reducing Problems of Malnutrition in the Society. *World News Of Natural Sciences*, *I*(8), 8.
- ✓ **Demule, M.C.Z.; Decaire, G. Z. and Decano, M. S.** (1996). Bioactive substances from Spirulina platensis. Int. J. Exp. Biol., 58: 93-96.

 $\mathbf{E}$ 

✓ **Dorman H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J.** (2003) Characterisation of the

antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chem. 83: 255-262.

- ✓ ELA MA., El-shaer NS .et Ghanen NB 1996 Anti microbienne évaluation et analyse chromatographie de quelques huiles essentielles et fixes pharmacie .51pp.993-995.
- ✓ **Fleurence**, **J.** (2021). Les *Microalgues de l'aliment du future à l'usine cellulaire*. ISTE Editions : UK.
- ✓ **Fox R.D.** (1999). *la Spiruline*, *Technique Pratique et Promesse*. Edisud in Cultivation Methods, Genetics, and Application in Medicine. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2541. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02541

F

- ✓ Furmniak M.A., Misztak, A.E., Franczuk, M.D., Wilmotte, A., Waleron, M., Waleron K.F. (2017). Edible Cyanobacterial Genus *Arthrospira*: Actual State of the Art.
- ✓ Falquet J. et HURNI J-P (2006). Spiruline: aspects nutritionnels. Pub. Antenna technologies, p 41.

G

- ✓ **Ghaeni, M., Roomiani, L. (2016).** Review for Application and Medicine Effects of *Spirulina* , *Spirulina platensis* Microalgae . *Journal of Advanced Agricultural Technologies* , 3(2) , 114-117.
- ✓ 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, p46.
- ✓ Georges- Jean Heintz, avec la collaboration de Daniel Hornicar et Lison Millot 2004, Le livret prophétique d'Ésaïe 40-55. Texto-bibliographie du XXème siècle, (Travaux du Groupe de Recherches et d'Études Sémitiques Anciennes, 6) Wiesbaden, Harrassowitz,

Η

- ✓ Habib, M.A.B., Parvin, M., Huntington, T.C., Hasan, M.R. (2008). A review on culture production and use of *spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish .*FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, 1034, 33.
- ✓ **Hajati, H., Zaghari, M.** (2019). Spirulina Platensis in Poultry Nutrition . Newcastle upon Tyne, UK: Cambridge Scholars Publishing.
- ✓ **Hug C., Von der Weid, D.(2011).** *la spiruline dans la lutte contre la malnutrition.* Antenna Technologies : Switzerland.
- ✓ **Harrar, A.** (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnusalaternus L, mémoire de magistère.
- ✓ Huignard, J., Glitho, I.A., Monge, J.P., Regnault-Roger, C., Coord. (2011). Insectes ravageurs des graines de légumineuses : Biologie des Bruchinae .
- ✓ Herrero et al. (2006) Investissements intelligents dans la production alimentaire durable : revisiter les systèmes mixtes culture-élevage. Sciences, 327, 822-825. <a href="https://doi.org/10.1126/science.1183725">https://doi.org/10.1126/science.1183725</a>.
- ✓ Hanaa H, Abd El-Baky, Farouk K, El Baz1 Et Gamal S. (2009). Production of phenolic compounds from Spirulina maxima microalgae and its protective effects in vitro to ward hepatotoxicity model El-Baroty21Plant Biochemistry. Department, National Research Centre, Dokki, Cairo, Egypt. Department of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 3(4). p. 133-139. <a href="http://www.academicjournals.org/ajpp.">http://www.academicjournals.org/ajpp.</a>
- ✓ Hettal et S Bodeau, <u>Y Bennis</u> ...Analytique et Clinique, 2014 Elsevier. Objectifs La povidone iodée (Bétadine ® ) est un antiseptique très largement utilisé en usage cutané et en irrigation dans le traitement des infections profondes. L'absorption excessive

J

✓ **Jambunathan, R. (1991).** Uses of Tropical Grain Legumes.11-15

- ✓ **Jourdan, J.P.** (2012). *Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale* . PublicationAntenna Technologie.
- ✓ **Jourdan, J. (2014).** Manuel de culture artisanale de la spiruline. Disponible sur <a href="https://www.fichier-pdf.fr/2015/09/18/manuel-de-la-culture-artisanale-despiruline/manuel-de-la-culture-artisanale-de-spiruline.pdf">https://www.fichier-pdf.fr/2015/09/18/manuel-de-la-culture-artisanale-despiruline/manuel-de-la-culture-artisanale-de-spiruline.pdf</a> (dernière consultation janvier 2018).
- ✓ **Julie Person.2010**. Algue filière de future Colloque Algues . Filières du futur ! 17-19 Novembre 2010Adebiotech, Romainville
- ✓ J. Sivakumar, C. Premkumar, P. Santhanam and N. Saraswathi 2011 Department of marine Science, Bharathidasan University, Tiruchirappalli 620 024 Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Calotropis gigantean Leaf.

K

✓ **Koru, E. (2012).** Earth Food *Spirulina (Arthrospira)*: Production and Quality Standarts . In Y, El-Samragy (Ed.). *Food Additive* (pp. 270).

 $\mathbf{L}$ 

- ✓ Liestianty D., Rodianawati, I., Arfah, R.A., Assa, A., Patimah., Sundari6., Muliadi.(2019).

  Nutritional analysis of *spirulina sp* to promote as super food candidate. *IOP Conference Series:*Materials Science and Engineering, 509, 6.
- ✓ Le bras et le bras Qritter l., fasquel D, lesueur M, lucas S, gouin S, 2016 : Etude de la consommation des algues alimentaires en France. Programme IDEALG Phase 1. Etude nationale.
- ✓ Larralde, J., Martinez, J.A. (1991). Nutritional value of faba bean: effects on nutrient utilization, protein turnover and immunity. Departamento de fisiologia animal y nutricion, universidad de Navarrapampiona (spain)
- ✓ **Lafri Imène1 \***, JEMNI Monia2 Bensehaila Sarra 3 et Boutekrabt Lynd (2013) Revue Agrobiologia (2017) 7(2): 623-634.
- ✓ Lapornic B, Prosek M, Wondra A G, Liyana-Pathirana, Shahidi, et al., (2005). Comparaison of extracts prepared from plant by products using different solvants and extraction time. Journal of food Engineering. 71: 214-222.

M

- ✓ **Morère.J.L., Pujol, R.** (2002). *Dictionnaire raissoné de Biologie* (ed.) :Editions Frison-Roche.
  - ✓ Manet A. (2016). La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine . Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie , Diplôme d'état , Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble.
  - ✓ Madkour F. ., Kamil, A.W., Nasr, H.S. (2012). Production and nutritive value of *Spirulina* platensis in reduced cost media. Egyptian Journal of Aquatic Research, 38,51-57.
- ✓ Magermans et al., 2019 Magermansi, P., Dengis, C., Detienne, X., Graindorge, C., Deliege, J.F. (2019). Training of Business and Civil Society Actors to the Culture of Spirulina in Haiti .Geo-Eco-Trop, 43(3), 453-460.
  - ✓ Marzorati S., Schievano, A., Idàb, A., Verotta, L. (2020). Carotenoids, chlorophylls and phycocyanin from *Spirulina:* supercritical CO2 and water extraction methods for added value products cascade. *Green Chimistry*, 22, 187-196.
  - ✓ Mishra T., Joshi, M., Singh, S., Jain, P., Kaur, R., Ayub, S., Kaur, K. (2013).

    Spirulina: the Beneficial Algae .International Journal of Applied Microbiology Science, 2(3), 21-35
  - ✓ **Molyneux P. 2004**. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. The Songklanakarin Journal of science and Technology. 26(2):211-219.
  - ✓ Manat A., 2016 La spiruline : Indications Thérapeutiques, Risques Sanitaires et Conseils à l'Officine, Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie, Diplôme d'état, Université Grenoble Alpes, Faculté de Pharmacie de Grenoble, p 12.

N

✓ **Nicoletti M. (2016).** Microalgae Nutraceuticals .*Foods*, 5(54), 13

 $\mathbf{o}$ 

✓ **Oyaizu, M. (1986)** Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidative Activities of Product of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. Japan Journal of Nutrition, 44, 307-315.http://dx.doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307.

P

- ✓ **Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C., Roura S. I. (2003)**. J. Lebensm.-Wiss.u.-Technol, 36: 679-684.
- ✓ **Patil** b , Sudipta Seal b and William T. Self \* a ... First published on 23rd January **2007** ... This journal is © The Royal Society of Chemistry **2007**
- ✓ **Pierlovisi C.** (2008). Composition Chimique de la spiruline. Colloque International sur la Spiruline Toliara sud-ouest de Madagascar.

Q

✓ Qureshi M.A., Ali, R.A., Hunter, R. (1995). Proc 44th Western Poultry Diseasec Conference, Sacramento, California. 117-121.

R

- ✓ **Ragusa I., Nardone, G.N., Zanatta, S., Bertin, W., Amadio, E.** (2021). Spirulina for Skin Care: A Bright Bleu Future. *Cosmetics*,8(1), <a href="https://doi.org/10.3390/cosmetics8010007">https://doi.org/10.3390/cosmetics8010007</a>.
- ✓ <u>Raina</u>P. <u>P Santaguida</u>, A Ismaila... Annals of internal ..., **2008** acpjournals.org Background: The effectiveness of the 5 US Food and Drug Administration—approved pharmacologic therapies for dementias in achieving clinically .
- ✓ Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. EditionsDunod, Paris, p. 254.
- ✓ **Rakotonantoandro L.E.**; **2010**; Valorisation de la mangue : pâte et pickles ; Mémoire de fin d'études ; Département Industries Agricoles et Alimentaires ; E.S.S.A.
- ✓ Razafindrajaona, J.M., Rakotozandriny, J.N., Rakotodrindrainy, R., Randria, J.N., Ramampiherika, K.D.(2006). Etude de la valeur nutritionnelle de la spiruline de Madagascar (spirulina platensis var. Toliara). Terre Malgache. Tany Malagasy.166-188.

- ✓ Sahoo D., Seckbach, J. (Eds.). (2015). The Algea World: Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology. In D, Sahoo., J, Seckbach (Eds.). *Biology of Algea* (pp. 531). New York, London: Springer.
- ✓ <u>Shalaby</u> M Peccianti M, <u>BE Schmidt</u>, <u>L Caspani</u>... Physical Review Letters, **2013** APS

Low-frequency currents induced by ultrashort laser-driven ionization can emit extremely broadband, single-cycle terahertz pulses.

- ✓ Sánchez Marta Sáncbez1, Jaime Bernal-Castillo1, Camilo Rozo2 -1gnacio Rodríguez, 2003 spirulina (Arthrosporic): an edible microorganism: a review p11.
- ✓ **Simpore J, Pietra V, Pignatelli S , 2006.** Effective program against mother-to-child transmission of HIV at Saint Camille Medical Centre in Burkina Faso. J Med Virol; 79(7):873-9
  - ✓ **Siret C.., SD, 2010** les composants chimiques des produits alimentaires, centre français d'exploitation du droit de copie. Paris, 18p
- ✓ Sall M, Souccar T., Periault, A., Trembalais, P., Elvir, N., Molean, V. (1999).

  La nutrition. Edi Axis Media www. Lanutrition.fr/ alimentsindex. Php.
- ✓ **Sroka, 2006.** The screening analysis of antiradical activity of some plant extracts.
- ✓ **Singleton Rossi Ja (1965).**Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16, p.144-158

T

- ✓ **Tebbani S., Lopes, F., Filali, R., Dumur, D., Pareau, D. (2014).** *Biofixation de CO2 par les microalgues*. London, UK: ISTE Editions.
- ✓ **Tsarahevitra j. (2005).** Adaptation de la Spiruline du Sud de Madagascar a la Culture en Eau de Mer. Mise au Point de Structures de Production a l'Echelle Villageoise. Thèse de Doctorat Es Sciences en Océanologie Appliquée, Université de Toliara.

- ✓ **Tedjani, A., Doutoum, A.., Aguid, MN., Bechir, M. (2013).** Spirulina: An Effective Dietary Supplement for Malnourished Children in Development Country .In Y, Srivastva (Ed.). *Advances In Food Science And Nutrition* (ed., pp 145).
- ✓ Tabagari I "Kurashvili, M ., Varazi, T ., Adamia, G "Gigolashvili, G ., Pruidze, M ., Chokheli, L ., Khatisashvili, G ., Niemsdroff, P.F. (2019). Application of Arthrospira

U

✓ Unnikrishnan Nair, G.S. (2013). Blue Green Algae: Food for the Future. In M.K, Rana (Ed.). Vegetables and Their Allied as Protective Food. (pp. 595). India: Scientifics Publishers.

V

✓ Vidalo, (2015). Spiruline : L'algue bleue de santé et de prévention

W

✓ Wang et Wang C, Chan SY, Leung A, Ng RP, Ng M, Tang LC, Ma HK, Tsoi WL, Kwan M.,(2010.). Cross-sectional study of semen parameters in a large group of normal Chinese men. Int J Androl 1985;8:257 – 274.

Y

✓ Yougbare I. (2007). Impact de la Prise Quotidienne de *Spirulina platensis* sur le Statu Immunobiologique et Nutritionnel des Personnes Vivant avec le Virus de l'Immunodéficience à Burkina Faso, Mémoire pour l'Obtention d'un Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques, Université Polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso, p1

#### **Documentations et livres**

- Rapport du groupe de travail PNNS sur les glucides, partie 2, mars 2007
- Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie 2005
- Chambre Syndicale Nationale de la Confiserie
- Codes d'usages des confiseries- septembre 2010
- Doin Editeurs, Paris, France, 240 p.

# Annexes

#### Extraction et rendement



#### **Etapes d'extraction et rendement :**













# Détermination des paramètres physico-chimiques de spiruline



#### a)Humidité

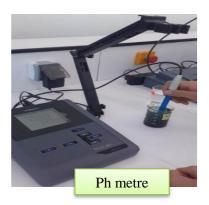






#### **b): PH:**





#### b) Taux de cendre :



Four à moufle



Résultats

#### Analyses effectuer sur l'extrait



#### a. Polyphénol:









#### b. Flavonoïde:



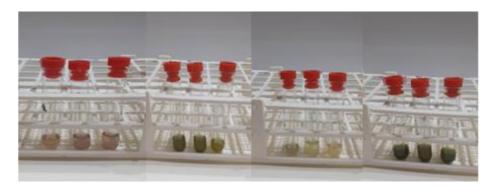




#### c. <u>DPPH</u>:



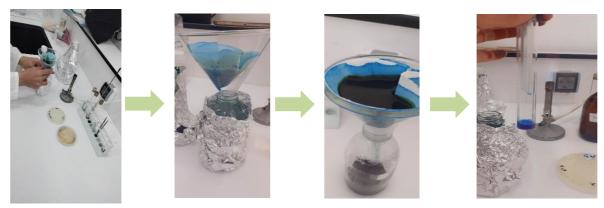




### Activité antibactérienne de la spiruline



#### a) Préparation de l'extrait :



#### b) Préparation des milieux de culture :

#### 1) Préparation de La gélose Mueller-Hinton

- 1. Peser 38 g de poudre et la mélanger dans 1 L d'eau distillée.
- 2. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant.
- 3. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute.
- 4. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 min à 121,1 °C.

# THE DATE OF THE PROPERTY OF TH

#### 2) Préparation de bouillon nutritif

- 1. Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée
- 2. Agiter lentement jusqu'à dissolution complète.
- 3. Répartir en tubes ou en flacons.
- 4. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
- 5. Refroidir le bouillon à température ambiante.



#### 3) Manipulation:









# Analyses effectuer sur le produit final



#### a) Codage:



#### b) <u>Détermination des paramètres physico-chimique</u>;

#### 1. Taux Humidité:







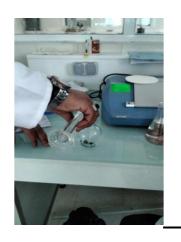








#### 3- Mesure de PH





#### 4- Mesure de matière graisse















#### **5-** Mesure des sucre totaux













#### 6-Dosage des protéines







#### Annexe Nº6

#### Détermination des paramètre microbiologiques de produit finale



#### Préparation des milieux de culture :

#### Préparation de gélose VRBG

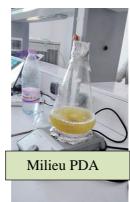
- 1. Mettre en suspension 39,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau
- 2. Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- 3. Ne pas surchauffer, ne pas autoclaver.
- 4. Refroidir le milieu à 44-47 °C.
- 5. Utiliser dans les 4 heures suivant la préparation.



#### Préparation de gélose PDA

- 1. Prendre 39 gr de PDA de synthèse.
- 2. Le mélanger à 1 l d'eau distillée.
- 3. Secouer doucement jusqu'à obtenir un mélange homogène.
- 4. Auto claver sous une pression de 1,4 bar à la température de 125°C durant 15min.
- 5. Laisser refroidir un peu sous la hotte, puis couler la solution sur les boîtes de Pétri.
- 6. Laisser sécher pendant 24 à 48 heures.

# **Manipulation:**











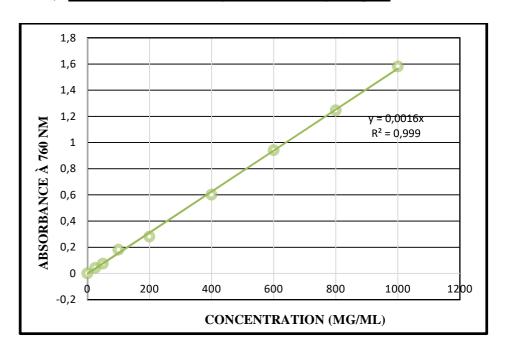


nir

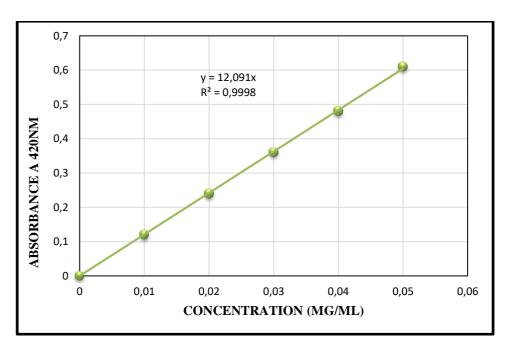
#### Les courbes standards



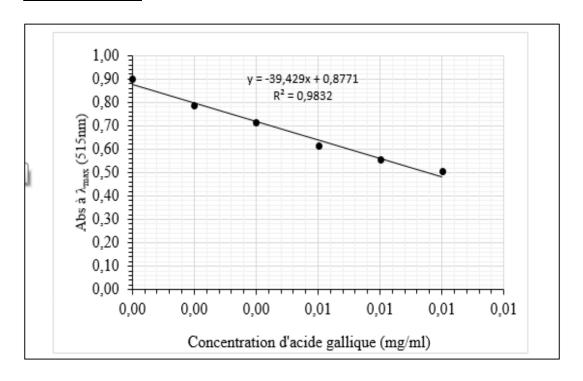
#### a) Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



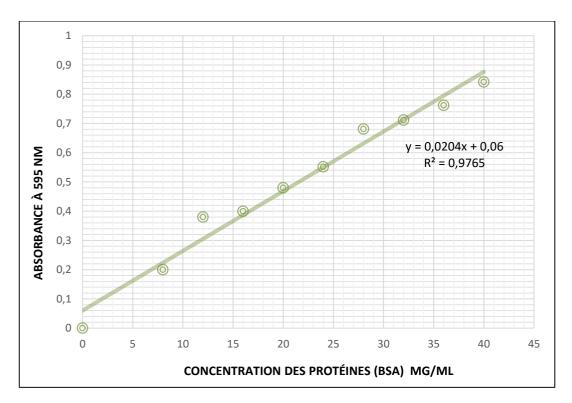
#### b) Courbe d'étalonnage de quercitaine



## c) <u>Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le calcul de l'activité antiradicalaire</u>



#### d) courbe d'étalonnage de BSA



#### La formule de dégustation



#### FORMULAIRE UTILISE DANS LE TESTE DEGUTATION

A

В

Date: 08 mais 2023	code sujet :
Vae .	

Evaluer a laide dune échelle d'intensité allant de 0 a5 descripteurs d'échantillon :

#### 1- COULEUR:

Intensité	0 (très claire)	2	2	3	5	5
Verte						

#### 2- ODEUR:

Intensité	0	1	2	3	4	5
Produit -A-						
Produit -B-						
Autre (à préciser)						

#### 3- SAVEUR:

Intensité	0	1	2	3	4	5
Menthe						
Sucrée						
Acide						
Amer						
Autre (à préciser)						

#### 4- CONSISTANCE

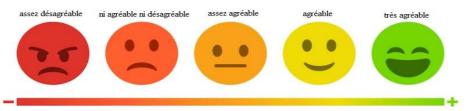
Intensité	0	1	2	3	4	5
Fermeté						

#### **5-TEXTURE:**

Intensité	0	1	2	3	4	5
Perception						

#### **6- ARRIERE GOUT:**

Intensité0	0	1	2	3	4	5
De menthe						
Amer						
Autre (à préciser)						



Volume du permanganate de potassium (Ml)	Cuivre en mg	Glucose en mg (Sucres totaux)	Sucres intervertis en mg (Sucre réducteurs)	Saccharose en mg
3.2	20.3	10.0	10.0	9.3
3	20.9	10.2	10.2	9.6
4	21.5	10.5	10.4	9.8
5	22.5	10.9	10.7	10.1
6	28.8	11.2	11.0	10.4
7	23.4	11.5	11.3	10.7
8	24.1	11.9	11.7	11.1
9	24. 7	12.2	12.0	11.4
4.0	25.4	12.5	12.4	11.7
1	26.0	12.8	12.7	12.0
2	26.6	13.1	13.0	12.3
3	27.3	13.5	13.3	12.6
4	27.9	13.8	13.6	12.9
5	28.5	14.1	14.0	13.3
6	29.2	14.5	14.3	13.5
7	29.8	14.8	14.6	13.8
8	30.4	15.2	14.9	14.1
9	31.1	15.5	15.3	14.5
5.0	31.7	15.7	15.5	14.7
1	32.3	16.0	15.9	15.1
2	33.0	16.4	16.2	15.4
3	33.6	16.7	16.5	15.6
4	34.2	17.0	16.8	15.9
5	34.9	17.3	17.2	16.3
6	35.5	17.6	17.5	16.6
7	36.1	17.9	17.8	16.9
8	36.8	18.3	18.1	17.2
9	37.4	18.6	18.5	17.5

#### Normes des germes dans les confiseries



Chaoual 1438 juillet 2017 JOU	RNAL OFFICIEL DE LA REPUI	BLIQUE A	LGERIE	ENNE N° 39	
	14 - Confiseries				
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites		lan illonnage	Limites micro	obiologique: c/g)
	metabones	n	С	m	М
	Germes aérobies à 30 °C	5	2	103	104
	Enterobacteriaceae	5	2	102	103
	Levures et moisissures	5	2	102	103
Chocolat, végécao et produits dérivés	Staphylocoques à coagulase +	5	2	102	103
	Salmonella	5	0	Absence dans 25 g	
	Listeria monocytogenes	5	0	100	
	Germes aérobies à 30 °C	5	2	105	106
	Enterobacteriaceae	5	2	10	102
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	102	103
Poudre de cacao	Levures	5	2	102	103
	Moisissures	5	2	103	104
	Salmonella	5	0	Absence	dans 25 g
	Germes aérobies à 30 °C	5	2	105	106
Autres produits de confiserie (caramels, bonbons, nougats,	Coliformes totaux	5	2	2	102
halkouma)	Moisissures	5	2	10	102
	Salmonella	5	0	Absence	dans 25 g

#### Résumé

L'objectif du présent travail consiste à étudier les propriétés biologiques de la spiruline et évaluer l'impact de

l'incorporation de cette microalgue sur la qualité organoleptique et physicochimique du loukoum artisanale et déterminer son pouvoir antioxydant et antibactérien contre deux souches Gram positive et Gram négative choisies pour le test. L'évaluation du pouvoir antioxydant de l'extrait méthanoïque de spiruline, réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH a montré une bonne efficacité antioxydante. Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré un effet inhibiteur de la spiruline contre la souche testée (*E. coli*) par rapport à la souche *S.aureus*.

L'évaluation sensorielle a montré que la préparation de loukoum enrichis par la spiruline été appréciée par les consommateurs et ne fait pas défaut par sa couleur notamment. Pour changer les habitudes alimentaires .et encourager les personnes à manger des sources de protéine végétale comme la spiruline qui porte l'énergie et les calories bénéfiques pour toutes les catégories et les âges des consommateurs

**Mots clés :** Spiruline, Pouvoir antioxydant, Activité antimicrobienne, polyphénols totaux, incorporation. Loukoum. Aliment riche en protéines.

#### **Summary**

The objective of this work is to study the biological properties of spirulina and to evaluate the impact of the incorporation of this microalgae on the organoleptic and physicochemical quality of artisanal. Turkish delight and to determine its antioxidant and antibacterial activity against two Gram-positive and Gram-positive strains. negative chosen for the test. The evaluation of the antioxidant activity of the methanoic extract of spirulina, carried out by the method of trapping the free radical DPPH showed a good antioxidant efficiency. The results of the antibacterial activity showed an inhibitory effect of spirulina. (E coli) compared to the S.aureus strain.

The sensory evaluation showed that the preparation of Turkish delight enriched with spirulina was appreciated by consumers and was not lacking in color in particular. To change eating habits and encourage people to eat vegetable protein sources such as spirulina which bring energy and calories beneficial to all categories and ages of consumers.

**Keywords:** Spirulina, Antioxidant power, Antimicrobial activity, total polyphenols, incorporation. Loukoum. Protein-rich food.

#### ملتخص

ان الهدف مر

وتقييم تأثير ها كمكون جديد يزيد من جودة الحلقومكمنتج سكري - السبير ولينا -هذا الدراسة، هو الدراسة البيولوجية لطحلب المجهري ، وتحديد فعاليتها المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا ضد سلالة احداهما سالبة الجرام وأخرى موجبة الجرام على طبيعة الطحلب ان تحديد القدرة أو الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلص الميثانول للطحلب المجهري من نوع السبير ولينا، والذي تم المجهري ان تحديد القدرة أو الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلص الميثانول للطحلب المجهري من نوع السبير ولينا، والذي تم المجهري المحرة الحديد القدرة أو الفاعلية المضادة للأكسدة لمستخلص الميثانول للطحلب المجهري من نوع السبير ولينا، والذي تم المحمد على المدينة ال

مع تأثير أكبر سمح. coli E. )بصفة خاصة (أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا تأثير ا مثبطا للسبير ولينا ضد السلالتين المختبرتين لنا التقييم الحسي لعينات الحلقوم لمخصبة بالسبير ولينا، باستنتاج بقاءها موضع تقدير من قبل المتذوقين رغم اللون غير الاعتيادي لها من خلال استبيان أنشئ في هذا الاتجاه

بالنسبة للعينات اللتي اضيفت لها السبيرولينا مقارنة بالعينة الشاهد فقد كانت بنسبة معينة من بروتين النتاتي الناتج يتمثل في إضا ودفع السوق الإنتاجية انتاج و تطبيق إضافة السبيرولينا الي كل السبيرولينا مما يساعد علي دفع المستهلك بكل الاعمار الى استهلاكها المنتوجات الغذائية لرفع العادات الغذائية الي تناولها وكسب كميات مفيدة من بروتين خاصة لرفع من ثقافة الغذاء ومساعدة الأشخاص ذوي الحساسية المفرطة من برقتين الحيواني باللجوء الي البروتين النباتي سبيرولينا الثرة الحالية في عالم التغذية وتحسين الكميات الطاقوية في المصنع لكل الفءات والاعمار

غذاء غني بالبروتيين. الحلقوم. سبيرولينا، الفاعلية المضادة للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا، البوليفينول، الدمج: الكلمات المفتاحية