

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

MADANI Dalila Djihane

Thème

**Valorisation du potentiel thérapeutique de la spiruline  
du sud de l'Algérie (*Arthrospira platensis*)**

Soutenu publiquement le : 29/09/2024

Jury :	Grade
Présidente : Mme BOUDALI S.	MAA
Encadrante : Mme BENGUIAR R.	MCA
Co-encadrante : Mme BENARABA R.	Pr.
Examinatrice : Mme TAIBI A.	MCB
Représentant de l'incubateur : M. NEGADI M.	MCA
Partenaire socio-économique : M. HALLOUZ K.	

Année universitaire 2023-2024



# Remerciement

**Tout d'abord, je suis reconnaissante envers Allah le tout-puissant pour m'avoir accordé la force, le courage, la volonté, la persévérance et m'avoir donné la possibilité de réaliser ce modeste travail.**

**Mes vifs remerciements et ma profonde gratitude à Madame BENGUIAR.R pour la confiance qu'elle m'a témoignée en acceptant de superviser mon travail de recherche pour ce mémoire. Je lui suis reconnaissante pour ses efforts, ses conseils éclairés, son dynamisme, ainsi que sa patience et ses compétences scientifiques, qui ont été déterminants dans la réussite de cette étude.**

**Je tiens à remercier Madame BENARABA.R pour l'honneur d'avoir été ma co-promotrice, ainsi que ses conseils précieux, ses orientations et toute l'aide qu'elle a m'apportée.**

**Je tiens sincèrement à exprimer ma gratitude envers Madame BOUDALI.S pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de ma présentation.**

**J'adresse mes sincères remerciements à Madame TAIBI.A d'avoir accepté d'examiner mon travail.**

**Je tiens à remercier profondément Madame ABDALLAH Fatiha, Mademoiselle AYAD Noura et Mademoiselle Fadhila pour leur bienveillance et leur comportement aimable tout au long de ma période de travail, ainsi que pour leur soutien moral, leurs conseils et leur aide à mon égard. Je n'oublie pas de remercier Madame Leila pour l'assistance qu'elle m'a fournie tout au long de mon travail.**

**J'adresse mes remerciements à M.AZZAOUI M. représentant d'incubateur et M. SEKIOU A. responsable d'incubateur à université IBN KHALDOUN pour son aide ainsi que pour ses conseils précieux.**

**Ce mémoire n'aurait jamais vu le jour sans le soutien constant de ma famille, en particulier de mes parents, qui m'ont toujours encouragé et motivé tout au long de mon parcours. Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements pour leur soutien indéfectible et leur patience infinie.**



# Dédicace

**Ce travail modeste est le fruit de sacrifices de mes parents au cours de ces années, mais aucun hommage ne pourrait exprimer ma plus grande fierté et mon amour profond à leur égard. C'est un moment de plaisir de dédier ce projet de fin d'étude à :**

**Ma chère maman**

**Ma raison de vivre, ma source de force merci d'être toujours là pour moi. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.**

**Mon cher père**

**Ma précieuse offre du dieu, tu as toujours été là pour me soutenir et me donner des encouragements.**

**Mon petit ange Faiza**

**Qui m'a apporté son soutien, son aide pendant les moments les plus difficiles**

**Mon cher grand père**

**Qui je souhaite une bonne santé**

**Mes chers tentes et oncles et cousins**

**Toute la famille MADANI et FEGHOUL**

**À tous ceux que j'aurais oublié de mentionner mais qui sont présents au plus profond de mon cœur et de ma pensée.**

**Djihane**

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>AG :</b>	Acide gallique
<b><i>A.platensis</i> :</b>	<i>Arthrospira platensis</i>
<b>DPPH• :</b>	2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl.
<b>EAG :</b>	Milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.
<b>EAQ :</b>	Milligramme équivalent quercitine par gramme de matière sèche.
<b>EPS :</b>	Exopolysaccharides.
<b>FRAP :</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power.
<b>I (%) :</b>	Pourcentage d'inhibition.
<b>sp :</b>	Espèce non identifiée.
<b>MRS :</b>	Man Rogosa Sharpe.
<b>pH :</b>	Potentiel Hydrogène.
<b>TCA :</b>	Acide trichloracétique.
<b>UFC :</b>	Unité formant colonie.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Spiruline sous forme de poudre.....	<b>07</b>
<b>Figure 2 :</b> Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale.....	<b>08</b>
<b>Figure 3 :</b> Mécanisme d'inhibition du radical libre DPPH•.....	<b>13</b>
<b>Figure 4 :</b> Teneurs en composés phénoliques dans le liquide d' <i>A. platensis</i> fermenté et non fermenté.....	<b>16</b>
<b>Figure 5 :</b> Teneurs en flavonoïdes dans les liquides fermentés et non fermentés d' <i>A.platensis</i> .....	<b>17</b>
<b>Figure 6 :</b> Pouvoir réducteur du fer de la spiruline ( <i>Arthrospira platensis</i> ) fermentée et non fermentée.....	<b>19</b>
<b>Figure 7 :</b> Activité antiradicalaire du radical libre DPPH des deux liquides d' <i>A.platensis</i> .....	<b>20</b>
<b>Figure 8 :</b> Croissance de <i>Lactobacillus</i> sp. en présence de spiruline ( <i>A.platensis</i> ).....	<b>23</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau 1 :** Matériel, milieux de culture et produits chimiques utilisés..... **06**

**Tableau 2 :** Valeurs du pH des bouillons fermentés et non fermentés d'*A.platensis*...**22**

## LISTE DES ANNEXES

<b>Annexe 1:</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	<b>34</b>
<b>Annexe 2:</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	<b>34</b>
<b>Annexe 3:</b>	Observation macroscopique et microscopique de la bactérie <i>Lactobacillus</i> sp.....	<b>35</b>
<b>Annexe 4 :</b>	Spiruline BEHATAM .....	<b>35</b>

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

## TABLE DES MATIERES

Introduction..... 1

### Chapitre I

#### Matériel Et Méthodes

I.1. Objectif de l'étude .....5

I.2. Lieu et durée de travail.....5

I.3. Matériel .....5

I.3.1. Matériel et produits chimiques .....5

I.3.2. Matériel biologique .....7

I.4. Méthodes .....7

I.4.1. Procédure expérimentale .....7

I.4.2. Revivification de la souche lactique .....9

I.4.3. Purification .....9

I.4.4. Préparation des solutions de fermentation de la spiruline avec la bactérie lactique ....9

I.4.4.1. Préparation de l'inoculum bactérien.....9

I.4.4.2. Fermentation lactique de la spiruline .....9

I.4.5. Dosage des composés phénoliques de la solution fermentée ..... 10

I.4.6. Dosage des flavonoïdes ..... 11

I.4.7. Analyse des paramètres oxydatifs ..... 12

I.4.7.1. Test de réduction de fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ..... 12

I.4.7.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)..... 12

I.4.8. Suivi de la croissance de la bactérie lactique étudiée..... 13



## Chapitre II

### Résultats Et Discussion

<b>II.</b> Résultats et discussion .....	16
<b>II.1.</b> Dosage des polyphénols totaux.....	16
<b>II.2.</b> Dosage des flavonoïdes .....	17
<b>II.3.</b> Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxydant Power) d' <i>A. platensis</i> .....	<b>19</b>
<b>II.4.</b> Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH•.....	<b>20</b>
<b>II.5.</b> Mesure du pH .....	21
<b>II.6.</b> Effets sur la croissance de <i>Lactobacillus.sp</i> .....	23
Conclusion .....	26
Références bibliographiques.....	29
Annexes.....	34

Résumé

ملخص

# *Introduction*

## Introduction

---

Actuellement, l'importance croissante accordée à la nutrition préventive et aux habitudes alimentaires saines contribue à réduire l'incidence des maladies chroniques. Cette prise de conscience accrue a entraîné une demande croissante pour des aliments sains, incitant ainsi l'industrie alimentaire à développer de nouveaux produits fonctionnels, ce qui a fortement influencé le marché (**Bortolini et al., 2022**). Ces aliments fonctionnels, en plus de leur valeur nutritionnelle fondamentale, offrent également des avantages supplémentaires pour la santé des consommateurs (**Lafarga et al., 2020**).

Parmi les diverses techniques de transformation alimentaire qui répondent à cette demande, la fermentation lactique se distingue par ses nombreux bienfaits. Ce procédé qui utilise des bactéries lactiques pour fermenter les aliments, améliore leur digestibilité et augmente la disponibilité des nutriments (**Manus et al., 2021**). En intégrant la fermentation lactique dans la production d'aliments fermentés fonctionnels, les fabricants peuvent créer des produits riches en nutriments essentiels, bénéfiques pour la flore intestinale et la santé globale des consommateurs. Les bactéries lactiques, utilisées depuis plusieurs siècles jouent divers rôles tels que la conservation des aliments (**Ajao et al., 2021**), la stimulation immunitaire et la compétition pour les sites d'adhésion aux parois intestinales (**Azad et al., 2018**).

Certaines algues constituent un substrat idéal pour la production d'aliments et de boissons fermentées en raison de leur haute valeur nutritionnelle et de leurs composants précieux (**Scieszka et Klewicka, 2019 ; Martelli et al., 2020**). Les polysaccharides dérivés des algues sont déjà reconnus et acceptés comme prébiotiques dans les régimes alimentaires (**De Jesus Raposo et al., 2016**). De plus, une étude précédente a démontré l'adéquation d'*Arthrospira platensis* F&M-C256 comme substrat pour la croissance de *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 8014 (LAB8014) (**Niccolai et al., 2019**).

Parmi ces algues, le genre *Spirulina* ou *Arthrospira* est une cyanobactérie filamenteuse connue sous le nom de spiruline. Consommée depuis des siècles par certains peuples primitifs d'Afrique et d'Amérique. La spiruline est réputée pour ses valeurs nutritionnelles due à sa richesse en protéines (70%) ce qui en fait un superaliment (**Becker, 2007**). Outre ses propriétés nutritionnelles, la spiruline suscite un regain d'intérêt de la part de la communauté scientifique en raison de ses vertus thérapeutiques, principalement attribués à la phycocyanine, certains polysaccharides et antioxydants qu'elle contient (**Soni et al., 2017**). Certaines études suggèrent également que la spiruline peut prévenir les altérations oxydatives générées par les radicaux libres (**Asghari et al., 2016**). La biomasse d'*A. platensis* est de plus en plus intégrée dans des produits alimentaires tels que le yaourt, le fromage et le lait fermenté, avec des résultats positifs

## Introduction

---

incluant une augmentation du nombre de bactéries lactiques et une amélioration de la qualité nutritionnelle du produit fermenté pendant le stockage (**Mazinani et al., 2016**).

À l'instar d'autres pays, l'Algérie contribue au développement des cultures de spiruline en raison de sa valeur nutritionnelle. Cette microalgue est cultivée dans le sud algérien, notamment dans la région du Hoggar, à 80 kilomètres au nord de Tamanrasset. La spiruline est reconnue pour ses propriétés biologiques et son potentiel pharmaceutique. Dans ce contexte, notre objectif est de valoriser la spiruline locale en la transformant en spiruline fermentée à l'aide d'une bactérie probiotique. Nous visons à développer un complément alimentaire à potentiel thérapeutique, axé sur la prévention des pathologies oxydatives et des maladies infectieuses, contribuant ainsi au bien-être de la santé humaine.

Nous avons émis l'hypothèse que les antioxydants libérés par la spiruline lors de la fermentation pourraient avoir une activité biologique supérieure à celle obtenue par d'autres procédés. Pour tester cette hypothèse, nous avons conçu une étude comparative entre la spiruline native et celle fermentée avec une bactérie probiotique.

Cette étude vise également à évaluer le produit fermenté en termes de contenu bactérien et de propriétés fonctionnelles, telles que la capacité antioxydante, *in vitro*. Ces paramètres sont cruciaux pour les premières étapes du développement de compléments alimentaires ou de produits alimentaires fonctionnels.

# *Chapitre I*

## *Matériel et méthodes*

### I.1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette présente étude consiste à :

- Développer un procédé de fermentation de la spiruline (*Arthrospira platensis*) provenant du sud de l'Algérie en utilisant une bactérie probiotique, dans le but d'améliorer ses propriétés thérapeutiques, notamment ses propriétés fonctionnelles.
- Déterminer les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes de produit fermenté obtenu.
- Evaluer l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et la capacité de piéger les radicaux libres).

### I.2. Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale de cette présente étude a été réalisée durant une période allant du 21/02/2024 jusqu'au 04/04/2024. Elle a été effectuée au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de Vie **Université Ibn Khaldoun- Tiaret.**
- Laboratoire d'Amélioration et de Valorisation des productions animales locales **Université Ibn Khaldoun- Tiaret.**

### I.3. Matériel

#### I.3.1. Matériel et produits chimiques

Le matériel, les produits chimiques et les milieux de culture nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le tableau suivant :

**Tableau 1** : Matériel, milieux de culture et produits chimiques utilisés

Matériel et appareillage	Réactifs et produits chimiques	Verrerie et autres	Milieux de culture
-Agitateur magnétique (ROTMAG)	-Acide gallique ( $C_7H_6O_5$ ; PM=170,12g/mol).	- Bécher	-Gélose MRS
-Balance analytique (OHAUS)	-Acide trichloracétique (163,38g/mol)	- Eprouvette graduée	
-Etuve (Heraeus)	-Carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ;PM=106 g/mol)	- Erlenmeyer	
-Spectrophotomètre (SHIMADZU)	-Chlorure de fer III ( $FeCl_3$ ; PM=162,2g/mol)	- Flacons	
-Micropipettes	-2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyle (DPPH•), ( $C_{18}H_{12}N_5O_6$ ; PM=394,32 g/mol)	- Embouts bleu et jaune	
-Vortex (Techno Kartell)	-Ethanol pur	- Tubes à essai	
-Bain marine agitateur (MEMMERT)	-Ferricyanure de potassium, ( $K_3 [Fe^{+3}(CN)_6]$ ; PM=329,26 g/mol)		
-Centrifugeuse (SIGMA)	-Phosphate de potassium dibasique ( $K_2HPO_4$ ; PM=228,23 g/mol).		
-Autoclave	-Phosphate de potassium monobasique ( $KH_2PO_4$ ; PM= 136,09 g/mol).		
-Incubateur (MEMMERT)	-Quercétine ( $C_{15}H_{10}O_7$ ; PM=302,236 g/mol)		
- Bec bunsen	-Réactif de Folin-ciocalteau (PM=188,14g/mol, 2N)		
	-Trichlorure d'Aluminium ( $AlCl_3$ ; PM=133,34g/mol)		
	-Chlorure de sodium ( $NaCl$ ; PM= 8,44 g/mol)		

### I.3.2. Matériel biologique

- **Spiruline**

Pour la réalisation de cette étude, une spiruline locale sous forme de poudre a été utilisée : la spiruline BEHATAM, cultivée au sein d'une petite unité de production située à 80 km de Tamanrasset. Elle est commercialisée sous le nom de « FOXBEHATAM » (FOX : Ripley, BOILEAU, Etienne, HIRI, Abdelkader, Tamanrasset) (figure 1).



**Figure 1.** Spiruline sous forme de poudre

- **Souche lactique**

Dans cette étude, une souche lactique probiotique du genre *Lactobacillus* sp. isolée d'un complément alimentaire commercialisé sous le nom de Lactibiane®, a été utilisée. I.4. Méthodes

### I.4.1. Procédure expérimentale

La procédure expérimentale réalisée au cours de cette étude est illustrée dans la figure 2



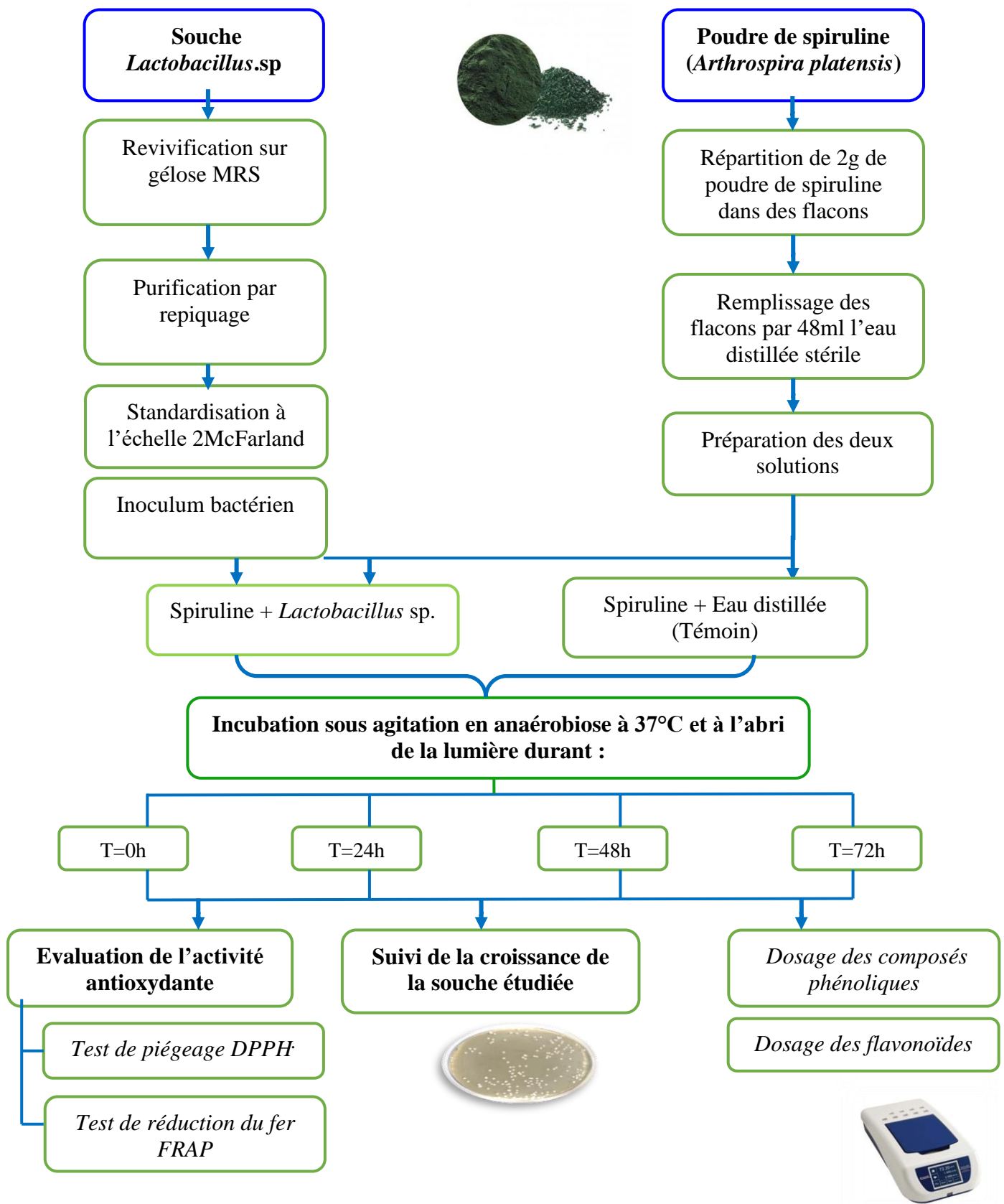


Figure 2. Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale

### 1.4.2. Revivification de la souche lactique

Un prélèvement d'isolat de culture pure préalablement conservés à -20 °C a été inoculé dans un bouillon MRS. Cette inoculation a été suivie d'une incubation à 37 °C pendant 24 h dans des conditions anaérobies.

### 1.4.3. Purification

La purification de cette souche a été effectuée par des repiquages successifs sur milieu MRS liquide puis un isolement en stries sur gélose MRS. La pureté des bactéries a été confirmée par des observations macroscopiques microscopiques.

### 1.4.4. Préparation des solutions de fermentation de la spiruline avec la bactérie lactique

#### 1.4.4.1. Préparation de l'inoculum bactérien

Une culture jeune de 18 h d'incubation de la souche lactique *Lactobacillus* a été utilisée pour préparer une suspension des cellules destinées à l'inoculation du mélange de fermentation à base de spiruline. Le nombre total des cellules bactériennes obtenues a été ajusté à l'échelle 2 McFarland (Ozyurt et al., 2023).

#### 1.4.4.2. Fermentation lactique de la spiruline

L'évaluation de la biomasse lyophilisée de spiruline comme substrat pour la croissance et la fermentation de la souche *Lactobacillus* sp. a été réalisée conformément à la méthode décrite par Nicolai et al. (2019). Dans des conditions stériles, 2 g de poudre de spiruline ont été introduits dans un flacon Erlenmeyer de 100 mL. À cette poudre, 48 mL d'eau distillée stérile ont été ajoutés, et la suspension a été inoculée avec 2 mL d'une culture de la souche *Lactobacillus*. Le volume final de la solution a été ajusté à 50 mL. Cette préparation est destinée à la fermentation avec la bactérie lactique.

Pour l'échantillon témoin, un autre flacon a été préparé en mélangeant 2 g de poudre de spiruline avec 50 mL d'eau distillée, sans ajout de culture bactérienne. Cette solution non fermentée a servi de contrôle pour comparer les effets de la fermentation. Les flacons ont été ensuite incubés à 37°C dans un bain marie agitateur pour assurer la fermentation. Une

évaluation des paramètres phytochimiques, oxydatifs et de l'acidité, ainsi qu'une analyse microbiologique, ont été effectuées à quatre temps différents : 0, 24, 48 et 72 heures de fermentation, pour les deux traitements : la spiruline avec de l'eau distillée et la spiruline avec la bactérie lactique. Il convient de noter que la fermentation lactique de la spiruline a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales.

#### **I.4.5. Dosage des composés phénoliques de la solution fermentée**

Le dosage des polyphénols totaux contenus dans les mélanges fermentés ont été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au Folin-ciocalteau décrite par **Singleton *et al.*, (1999)**.

- ***Principe***

La méthode repose sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par le réactif Folin-Ciocalteau. Cette réaction conduit à la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue, ayant un maximum d'absorption à une longueur d'onde  $\lambda=760\text{nm}$ . L'intensité de cette absorption est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon. Le dosage des composés phénoliques est réalisé en comparant la densité optique observée à celle obtenue avec un étalon de concentration connue, l'acide gallique.

- ***Technique***

500  $\mu\text{l}$  du réactif Folin-Ciocalteau ayant une concentration de 0,2 N ont été ajoutés à 500 $\mu\text{l}$  de chaque échantillon (mélange fermenté et non fermenté (témoin), après 5 minutes d'incubation, 1500  $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 7,5 % ont été additionnés. Le mélange résultant a été incubé pendant 20 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, l'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Il est important de noter qu'une courbe d'étalonnage a été réalisée simultanément (voir annexe 1) afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans nos échantillons. Cette courbe a été établie en utilisant des concentrations précises d'acide gallique. Ce dernier a été soumis aux mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g) calculées selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

**c**: Concentration de l'échantillon calculée.

**D** : Facteur de dilution.

**V** : Volume de l'eau distillée en ml

**m** : Masse de l'échantillon en g

#### I.4.6. Dosage des flavonoïdes

La quantification de la teneur en flavonoïdes totaux présents dans les mélanges de spiruline a été effectuée selon la méthode décrite par **Bahorun et al., (1996)**.

- **Principe**

Cette méthode repose sur la formation de complexes jaunes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ). Cette réaction implique que le métal perd deux électrons pour se lier à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant ainsi comme donneur d'électrons. La couleur jaune atteint une absorption maximale à 430 nm.

- **Technique**

1 ml de chaque échantillon a été mélangé avec 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% préparée dans de l'eau distillée. Ce mélange a été incubé à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 10 min, par la suite l'absorbance a été mesurée à 430 nm par rapport un blanc préparé. La quantification des flavonoïdes s'est effectuée en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec un flavonoïde standard, la quercétine (voir annexe 2). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par g de matière sèche (mg EQ/g) et calculée selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

**C** : Teneur en flavonoïdes exprimée en mg Equivalent quercétine par g

**c**: Concentration de l'échantillon calculée.

**D** : Facteur de dilution.

**V** : Volume de l'eau distillée en ml

**m** : Masse de l'échantillon en g

### I.4.7. Analyse des paramètres oxydatifs

#### I.4.7.1. Test de réduction de fer FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

- *Principe*

Cette méthode permet d'évaluer la capacité du mélange fermenté obtenu, à différents temps, à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  en ferrocyanure de potassium ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (**Oyaizu, 1986**).

- *Technique*

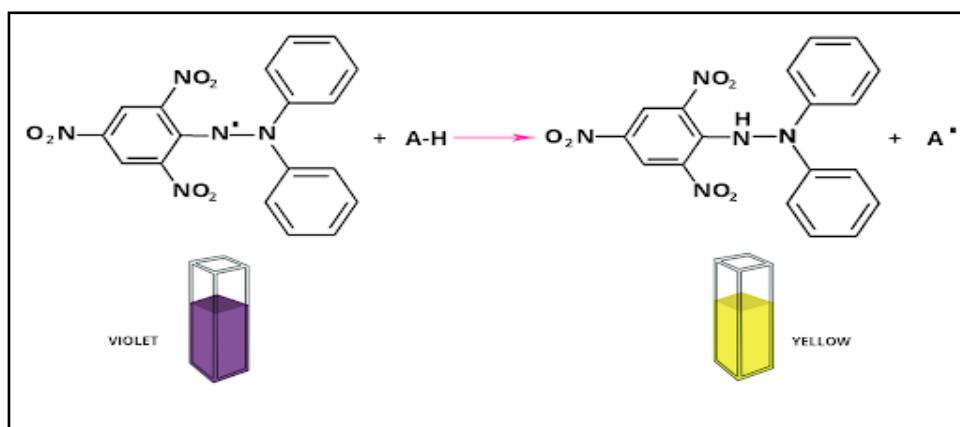
Le pouvoir réducteur du fer  $\text{Fe}^{3+}$  dans les échantillons a été évalué en suivant la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**. Pour cela, 500  $\mu\text{l}$  de chaque échantillon a été mélangés avec 500  $\mu\text{l}$  d'une solution tampon phosphate 0,2M (pH=6,6) et 500  $\mu\text{l}$  de ferricyanure de potassium  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  à 1%. Ce mélange a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis 500  $\mu\text{l}$  d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. Ensuite, un aliquot de 1 ml du mélange réactionnel précédent a été combiné avec 1 ml d'eau distillée et 500  $\mu\text{l}$  d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 700 nm par rapport un blanc préparé de la même manière, en remplaçant l'échantillon par l'eau distillée. Une augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés.

#### I.4.7.2. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

- *Principe*

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est couramment utilisé comme substrat principal pour évaluer rapidement et directement l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en tant que radical libre et de la simplicité de son analyse (**Blois, 1958 ; Brand et al., 1995**).

À température ambiante, le radical DPPH•, en solution alcoolique, présente une intense coloration violette qui s'estompe lorsqu'il entre en contact avec une substance donneuse de protons. Cette diminution de la coloration met en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un échantillon en démontrant sa capacité à piéger le radical libre, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm. (**Blois, 1958 ; Brand et al., 1995**).



**Figure 3.** Inhibition du Radical libre DPPH•

- **Technique**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque mélange sur le DPPH• est mesuré par la procédure décrite par **SanchezMoreno et al. (1998)**.

Un volume de 750 µl de différentes concentrations de chaque échantillon a été ajouté à 750 µl de la solution méthanolique du DPPH• à 4 mg/ml et fraîchement préparée. Le mélange réactionnel a été incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 50 min, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm.

La capacité du mélange fermenté ou non à piger le radical DPPH a été exprimée en pourcentage d'inhibition celui-ci est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition du radical DPPH} = [(A1-A2) / A1] * 100$$

Où

**A1** : absorbance du contrôle

**A2** : absorbance de l'échantillon

#### **I.4.8. Suivi de la croissance de la bactérie étudiée**

Le dénombrement de la bactérie lactique bactérie cultivable dans le bouillon de spiruline fermenté, a été réalisé en triplicata au début (0 h) et qu'après 24, 48 et 72 h, par ensemencement en surface de 0,1 ml des dilutions décimales préparées sur gélose MRS. Les boîtes en ensuite été incubées à 37°C en anaérobiose pendant 24 et 48h (**Niccolai et al., 2019**).

Après incubation, le nombre de colonies a été compté, et les résultats sont exprimés en logarithme du nombre d'unités formant colonie (UFC) par millilitre de solution fermentée (log UFC/mL).

# *Chapitre II*

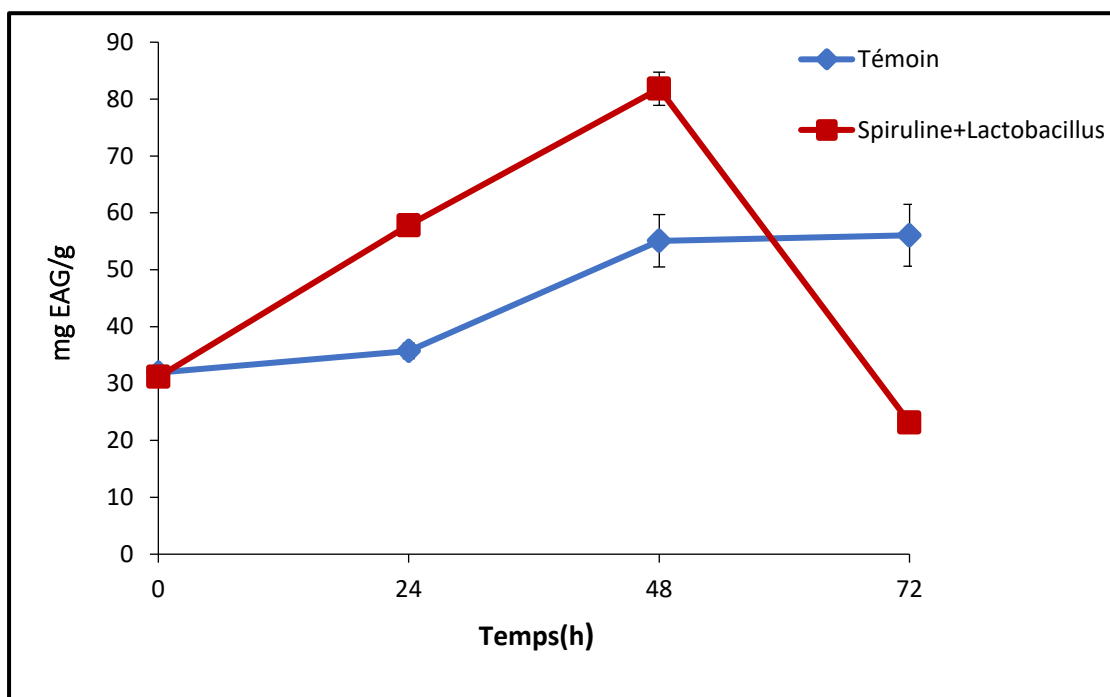
## *Résultats et discussion*



## II. Résultats et discussion

### II.1. Dosage des composés phénoliques

Les résultats du dosage des taux des composés phénoliques issus des solutions de spiruline fermentées ou non fermentées par la bactérie lactique à différents temps de fermentation sont présentés dans la figure 4



**Figure 4.** Teneurs en composés phénoliques dans le liquide d'*A. platensis* fermenté et non fermenté.

*Témoin : spiruline + eau distillée*

*Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$ EC de trois essais indépendants.*

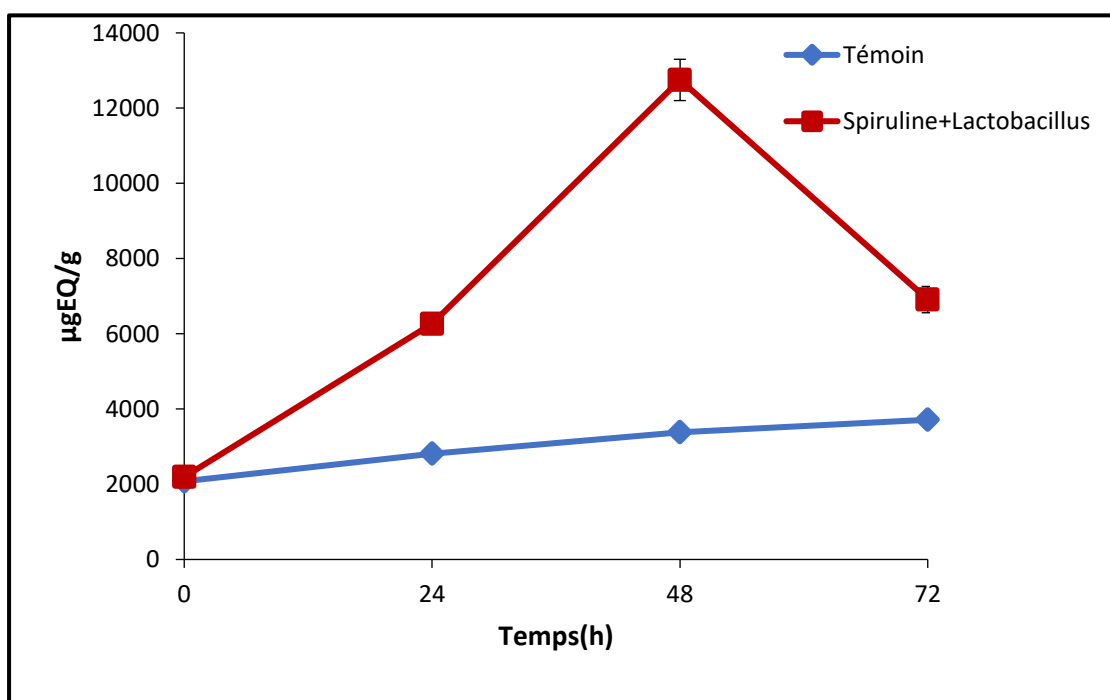
Les résultats obtenus révèlent une augmentation des composés phénoliques avec des concentrations élevées dans le liquide de spiruline fermenté par *Lactobacillus*, observée à 24 h et 48 h de fermentation, par rapport au témoin (spiruline + eau distillée) dans les mêmes conditions expérimentales. On note à T24 h une valeur de  $57,81 \pm 1,35$  vs  $35,73 \pm 1,35$  mg EAG/g et à T48 h une valeur de  $81,81 \pm 2,92$  vs  $55,09 \pm 4,60$  mg EAG/g respectivement. Cette augmentation pourrait être due au processus de fermentation lactique, qui est responsable de la libération des polyphénols tels que l'acide gallique, ainsi que d'autres métabolites.

Cependant, à la fin de la fermentation, après 72 h, on constate une réduction de la teneur en composés phénoliques dans le liquide de spiruline fermenté, évaluée à 25,84 %. Cette diminution est probablement due à la phase de déclin de la bactérie, lorsque le milieu devient épuisé et que les bactéries consomment les composés phénoliques de la spiruline comme source de survie. En conséquence, la fermentation lactique de la spiruline a amélioré l'apparence de ses composés phénoliques (Liu et al., 2011).

En revanche, une stabilité de la teneur en polyphénols totaux a été remarquée dans le liquide de spiruline seul (témoin).

## II.2. Quantification des flavonoïdes

Les résultats de la quantification des flavonoïdes dans le liquide de spiruline fermenté par la bactérie probiotique *Lactobacillus* sp., ainsi que leur évolution à différents temps de fermentation, sont indiqués dans la figure 5.



**Figure 5.** Teneurs en flavonoïdes dans les liquides fermentés et non fermentés d'*A.platensis*

Témoin : spiruline + eau distillée.

Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$ EC de trois essais indépendants.

Les teneurs en flavonoïdes présentes dans le liquide de spiruline fermenté augmentent entre 0h, 24 h et 48 h de fermentation, avec des concentrations de l'ordre de  $2194,79 \pm 9,45$ ,  $6263,39 \pm 84,1$  et  $12750 \pm 549,19$   $\mu\text{gEQ/g}$  respectivement, en comparaison avec le témoin. Néanmoins, ces teneurs restent stables dans le liquide contenant uniquement de la spiruline (témoin) pendant la fermentation.

Après 72 h de fermentation, une diminution remarquable de la teneur en flavonoïdes est observée dans le liquide de spiruline fermenté, atteignant  $6909,2261 \pm 350,13$   $\mu\text{g EQ/g}$ .

Les résultats de la quantification des composés phénoliques et flavonoïdes montrent que l'augmentation des teneurs de ces composés durant la fermentation est due à la réaction enzymatique dans le substrat, ce qui libère des composés phénoliques relativement élevés comme produit final. En effet, la fermentation lactique stimule la réduction du pH, activant ainsi plusieurs enzymes impliquées dans l'hydrolyse des polyphénols complexes, ce qui conduit à des polyphénols actifs, plus simples et en plus grande quantité (**Wijayanti et al., 2017**). De ce fait, une étude réalisée par **Ernesta et al. (2021)** signale l'effet de la fermentation de la spiruline sur l'amélioration des propriétés nutraceutiques.

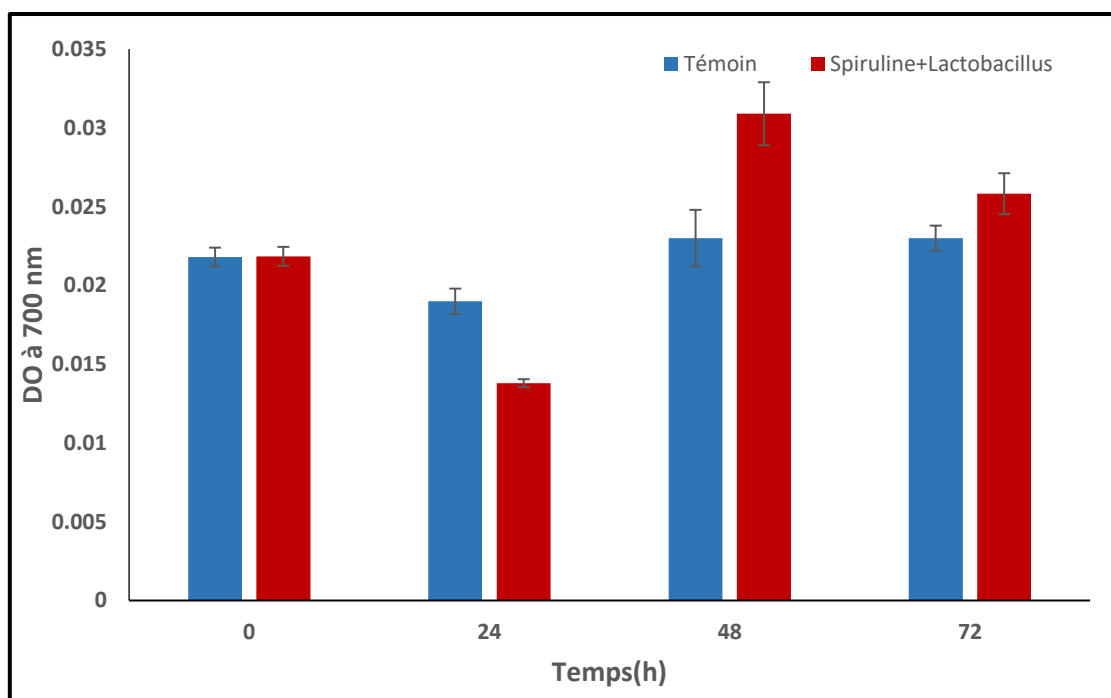
Il a été rapporté que *Lb. plantarum* possède une forte activité glucosidase. Pendant la fermentation, elle peut hydrolyser les phénols et les flavonoïdes (**Dueñas et al., 2005**). Il a également été indiqué que la fermentation peut induire la dégradation structurale de la paroi cellulaire, entraînant la libération et/ou la synthèse de composés bioactifs (**Zhang et al., 2012**).

Les résultats obtenus au cours de cette étude corroborent ceux rapportés par **Niccolai et al. (2019)**. Ces auteurs indiquent que la teneur totale en polyphénols dans un liquide contenant de la spiruline et la bactérie lactique LAB8014 avait augmenté dès le début et jusqu'au deuxième jour de fermentation. Cependant, **Marco Castro et al. (2019)** rapportent dans leur étude des teneurs de l'ordre de  $15 \text{ mg EAG g}^{-1}$  pour la biomasse d'*A.platensis* fermentée par LAB8014 pendant 48 h. Ces valeurs sont largement inférieures à celles obtenues dans notre étude.

Toutefois, les légères différences observées entre ces résultats sont relativement mineures. Les variations dans les teneurs en composés phénoliques entre les différentes études peuvent s'expliquer par le fait que le type de souche de spiruline, la bactérie lactique utilisée, et les conditions de fermentation peuvent influencer de manière significative l'estimation de la teneur et le type des composés phénoliques totaux.

### II.3. Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Les résultats du potentiel réducteur du fer de spiruline fermentée ou non fermentée par la bactérie lactique *Lactobacillus* sp. a différents temps sont illustrés dans la figure 06.



**Figure 6.** Pouvoir réducteur du fer de la spiruline (*A.platensis*) fermentée et non fermentée.

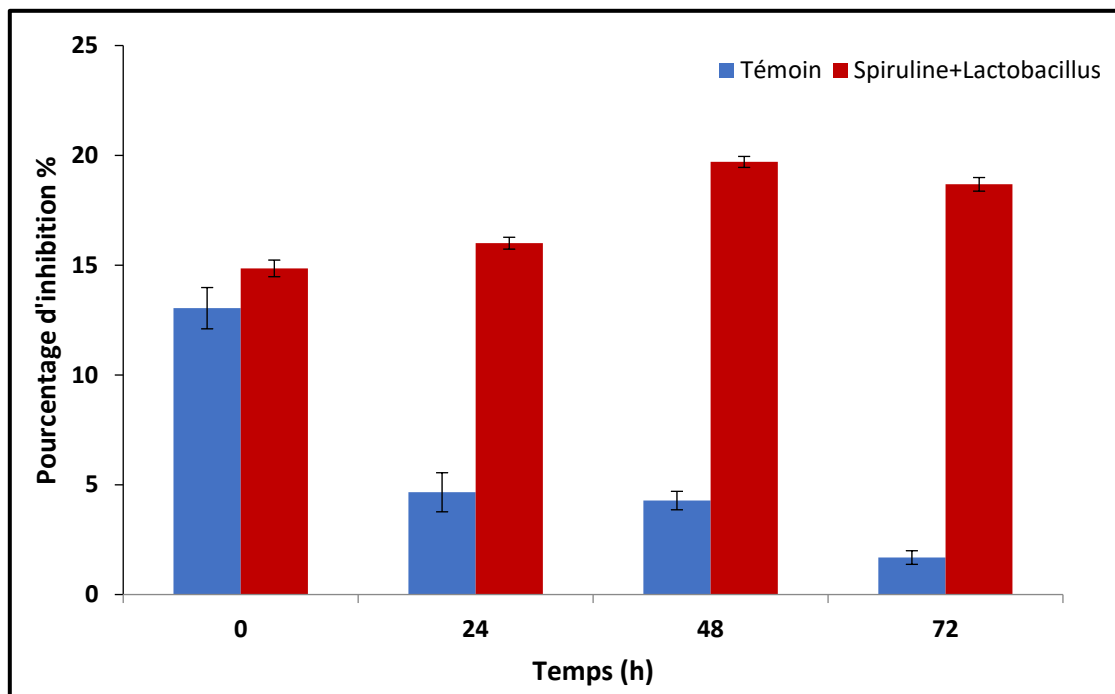
*Témoin : spiruline + eau distillée.*

*Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$ EC de trois essais indépendants*

Les résultats concernant la capacité réductrice du fer de la spiruline fermentée par la bactérie lactique, évaluée à différents temps par la technique de FRAP, montrent que le potentiel réducteur du fer d'*A. platensis* fermentée diminue après 24 h, puis augmente après 48 h de fermentation. Cette augmentation est évaluée à 41,74 % par rapport au pouvoir réducteur du témoin et de 50% en comparaison à la capacité réductrice mesurée à 24 h. Cependant, une diminution de 18 % du pouvoir réducteur a été observée après 72 h de fermentation. En outre, aucun changement du pouvoir réducteur n'a été détecté dans la spiruline non fermentée entre les différents temps de fermentation.

#### II.4. Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH•

Les résultats de l'activité antiradicalaire (DPPH) des bouillons de spiruline fermentée et non fermentée sont présentés dans la figure 7.



**Figure 7.** Activité antiradicalaire du radical libre DPPH des deux liquides d'*A.platensis*.

*Témoin : spiruline + eau distillée*

*Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$ EC de trois essais indépendants.*

Les résultats de l'activité antiradicalaire des bouillons de spiruline fermentés et non fermentés sont exprimés en pourcentage d'inhibition et en fonction du temps de fermentation. Ces résultats indiquent que la spiruline fermentée par *Lactobacillus* possède des taux d'inhibition importants et que ceux-ci augmentent en fonction du temps de fermentation, variant entre  $14,85 \pm 0,38\%$  et  $18,68 \pm 0,31\%$ . Cela reflète leur forte capacité antioxydante. En revanche, pendant toute la durée de fermentation, la spiruline non fermentée affiche une capacité d'inhibition du radical DPPH• faible, inférieure à celle de la spiruline fermentée. De 0 h à 48 h de fermentation, la capacité de la spiruline fermentée à capturer les radicaux a augmenté de 19,7 %. Toutefois, après 72 h de fermentation, une légère diminution de 18,68 % a été observée dans la capacité de cette spiruline à capturer le radical DPPH•.

Nos résultats concernant la capacité à piéger le radical DPPH• sont largement inférieurs à ceux rapportés par **Niccolai et al. (2019)**. Ces derniers ont montré qu'après la fermentation lactique d'*Arthrospira* en utilisant *Lb. plantarum*, l'activité antioxydante avait augmenté de 79 %. De

même, de **Marco Castro et al. (2019)** ont établi que l'activité antioxydante in vitro était améliorée dans la spiruline fermentée par rapport à la biomasse non traitée.

En outre, **Liu et al. (2011)** ont rapporté une augmentation de la capacité de piégeage des radicaux DPPH après la fermentation de la biomasse d'*A.platensis* dans du lait. Ces observations suggèrent que les polyphénols sont l'un des principaux contributeurs à l'activité antioxydante, probablement en synergie avec la phycocyanine libérée par la biomasse d'*A.platensis* et les composés antioxydants provenant de la bactérie lactique *Lactobacillus*. En effet, plusieurs travaux menés par **Fu et al. (2011)** et **Niccolai et al., (2020)** ont rapporté des corrélations positives significatives entre les polyphénols totaux et l'activité antioxydante pour divers aliments ou boissons. De nombreuses études montrent également que les bactéries lactiques probiotiques possèdent une forte activité antioxydante (**Wang et al., 2017 ; Min et al., 2019**). **Suzuki et al. (2013)** ont identifié deux composés, l'acide L-3-(4-hydroxyphényl) lactique et l'acide L-indole-3-lactique, comme étant des facteurs potentiels responsables de la capacité des cultures de *Lb. plantarum* à piéger les radicaux DPPH.

L'activité antioxydante de la spiruline fermentée est également liée à l'action des exopolysaccharides produits durant la fermentation (**Hoffmann et al., 2019**). En effet, des études antérieures ont montré que l'activité antioxydante de certaines espèces de *Lactobacillus*, telles que *Lb. rhamnosus*, *Lb. helveticus*, *Lb. sakei* et *Lb. plantarum*, pourrait être attribuée à la production de composés à la surface cellulaire, tels que les exopolysaccharides (EPS) (**Wang et al., 2017 ; Wang, 2020**). L'effet antioxydant des EPS pourrait résulter de leur capacité à piéger les radicaux libres, soit par la libération d'hydrogène actif à partir des groupes hydroxyles présents sur les EPS, soit par la formation de complexes stables avec ces radicaux (**Pan et Mei., 2010 ; Li et al., 2014**).

## II.5. Mesure du pH

Les résultats de détermination du pH des bouillons de spiruline fermentés ou non fermentés pendant la fermentation, sont présentés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Valeurs du pH des bouillons fermentés et non fermentés d'*A.platensis*.

Temps (h)	Témoin	Spiruline+ <i>Lactobacillus</i>
0	6,36	6,50
24	6,45	6,46
48	6,28	6,36
72	6,75	6,20

*Témoin : spiruline + eau distillée*

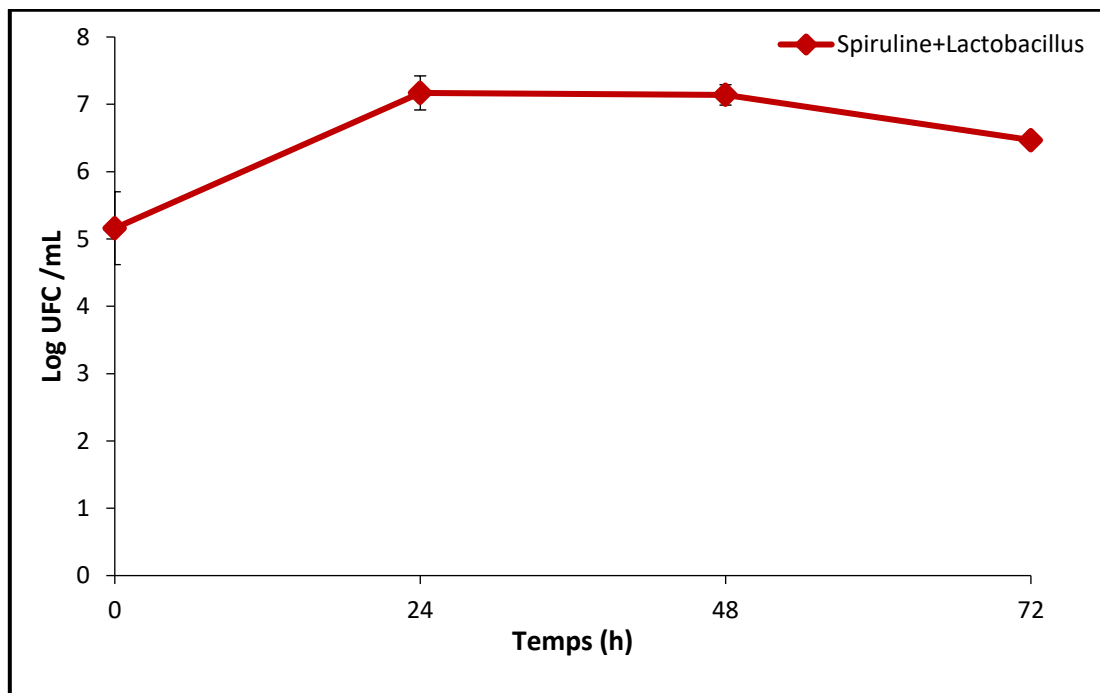
Au début (0 h) et à la fin de la fermentation (72 h), les valeurs du pH du bouillon de spiruline fermenté indiquent une légère diminution, avec un intervalle de 6,50 à 6,20, par rapport au témoin qui enregistre des valeurs de l'ordre de 6,36 à 6,75. Cela peut être attribué à la libération d'acides aminés neutres et de protéines provenant de la dégradation de la spiruline.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Heo et al. (2018)**, qui ont étudié l'évaluation du pH de la spiruline fermentée par *Kazachstania servazzii*. Ces auteurs ont constaté que le pH variait entre 6,92 et 6,02 après 48 h de fermentation.

Une étude menée par **Tolpeznikaite et al. (2023)** sur la détermination des composés bioactifs au cours de la fermentation en milieu liquide et en milieu solide de la spiruline fermentée par des souches de lactobacilles indique que les valeurs du pH des échantillons de spiruline n'ont pas varié après 48 h de fermentation. Cette différence observée entre nos résultats et ceux de la littérature peut probablement s'expliquer par la souche de bactérie lactique étudiée et les conditions de fermentation.

## II.6. Effet sur la croissance de *Lactobacillus* sp.

La figure ci-dessous représente la courbe de croissance de *Lactobacillus* dans le bouillon de spiruline, exprimée en UFC/mL en fonction du temps de fermentation.



**Figure 8.** Croissance de *Lactobacillus* sp. en présence de spiruline (*A.platensis*).

Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$ EC de trois essais indépendants.

Les résultats obtenus montrent que la croissance de *Lactobacillus* sp. dans le milieu contenant la spiruline est maximale et rapide durant les 24 premières heures de fermentation. Cette augmentation est estimée à 38,75% par rapport à la valeur initiale de l'inoculation. Par la suite, les valeurs sont restées constantes après 48 h de fermentation. En revanche, une diminution de 25,1% de la charge microbienne a été observée après 72 h de fermentation et ceci peut être expliqué par l'épuisement des nutriments dans le milieu.

D'après ces résultats, il apparaît que la spiruline s'est révélée être un substrat adéquat pour la croissance de *Lactobacillus* sp. En effet, l'augmentation progressive de la croissance de *Lactobacillus* peut être attribuée à la présence de substances hautement accessibles et nutritives dérivées de la biomasse de spiruline, qui stimulent le métabolisme bactérien. Ces substances comprennent des exopolysaccharides, des acides aminés libres, des vitamines, des minéraux essentiels et des acides nucléiques (Niccolai et al., 2018).

Certaines études ont montré la croissance des bactéries lactiques en présence de spiruline (*A. platensis*). En effet, Jamnik et al. (2022) ont observé que l'augmentation



maximale du nombre de bactéries lactiques se produisait au cours des 24 premières heures de fermentation. De plus, **Niccolai et al. (2019)** ont démontré que la biomasse lyophilisée d'*A. platensis* favorisait la croissance de *Lb. plantarum*, atteignant une concentration bactérienne maximale de 10,6 Log CFU/mL après 48 heures de fermentation.

Conformément à ces résultats, **Bhowmik et al. (2009)** ont constaté que l'ajout d'*A. platensis* aux différentes cultures de *Lactobacillus* favorisait la croissance, atteignant jusqu'à un maximum de 9 Log UFC/mL après 10 h d'incubation. Ils ont également observé que la spiruline pourrait offrir une source unique de nutriments pour les bactéries probiotiques grâce à sa capacité à réduire le potentiel redox, son effet prébiotique, ainsi que la présence d'absorbants d'oxygène.

*Conclusion*  
*Et*  
*Perspectives*

## Conclusion

---

De nos jours, les cyanobactéries suscitent un grand intérêt au sein de la communauté scientifique en raison de leur haute valeur biologique et nutritionnelle. Dans ce contexte, la demande croissante pour des produits fermentés, fonctionnels ou végétaliens ouvre de nouvelles perspectives pour l'utilisation d'*A.platensis*. Cette cyanobactérie est désormais envisagée comme un ingrédient naturel et/ou un stimulateur de croissance des bactéries lactiques dans la production d'aliments fermentés. En effet, cet intérêt a stimulé la recherche continue de nouveaux ingrédients naturels à intégrer dans les formulations alimentaires (Bhowmik et al., 2009). L'objectif de cette étude est d'une part de valoriser la spiruline Behatam en la transformant en spiruline fermentée à l'aide d'une bactérie probiotique, et d'autre part d'évaluer l'effet de la fermentation lactique sur les propriétés fonctionnelles de la spiruline, notamment son activité antioxydante, ainsi que sur la croissance de la bactérie probiotique utilisée (*Lactobacillus* sp.). Les résultats montrent une augmentation des composés phénoliques dans le liquide de spiruline fermenté par *Lactobacillus*, avec des concentrations plus élevées après 24 h ( $57,81 \pm 1,35$  mg EAG/g) et 48 h ( $81,81 \pm 2,92$  mg EAG/g) de fermentation par rapport au témoin ( $35,73 \pm 1,35$  mg EAG/g à 24 h et  $55,09 \pm 4,60$  mg EAG/g à 48 h).

Parallèlement, les teneurs en flavonoïdes dans le liquide de spiruline fermenté augmentent à 24 h et 48 h de fermentation, avec des concentrations respectives de  $6263,39 \pm 84,19$   $\mu$ gEQ/g,  $12750 \pm 549,19$   $\mu$ gEQ/g, comparées au témoin. Cependant, après 48 h, une diminution notable de la teneur en flavonoïdes est observée, atteignant  $6909,22 \pm 350,13$   $\mu$ gEQ/g.

La capacité réductrice du fer dans la spiruline fermentée augmente après 48 h de fermentation avec un pourcentage de 15,39 %. Cependant, une réduction de 18,1% a été notée après 72 h de fermentation.

Concernant l'évaluation de l'activité de piégeage du radical libre DPPH•, les résultats montrent que la spiruline fermentée présente des taux d'inhibition élevés, lesquels augmentent avec le temps de fermentation, variant entre  $14,85 \pm 0,38\%$  et  $18,68 \pm 0,31\%$ . En comparaison, les taux d'inhibition du témoin sont de  $13,04 \pm 0,94\%$  et  $1,68 \pm 0,31\%$ . Les valeurs du pH du bouillon de spiruline fermenté montrent une légère diminution par rapport à celles du témoin.

La croissance de *Lactobacillus*.sp dans le milieu contenant la spiruline est maximale et rapide au cours des 24 premières heures, augmentant de 38,75 % par rapport à l'inoculation initiale. Après 48 h, les valeurs restent constantes, mais une diminution de 25,19% est observée après 72 h.

En conclusion, la fermentation lactique est une méthode efficace pour créer des produits

## Conclusion

---

fonctionnels innovants à partir d'*A.platensis*. En plus d'améliorer les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de la spiruline, cette technique permet également d'incorporer une quantité significative de cellules de *Lactobacillus* probiotiques, offrant ainsi des avantages supplémentaires au produit final. Ainsi, pour valider cette étude et poursuivre le travail entrepris, les perspectives suivantes peuvent être envisagées :

- ✓ Évaluation de la Stabilité et de la Biodisponibilité de produit fermenté.
- ✓ Réaliser des études cliniques pour évaluer les effets de la spiruline fermentée sur la santé humaine, ainsi que des tests consommateurs pour évaluer l'acceptabilité et les préférences des produits développés.
- ✓ Évaluer la viabilité économique et la durabilité de la production de spiruline fermentée à grande échelle, en considérant les coûts de production, les impacts environnementaux et les bénéfices potentiels.
- ✓ Lyophilisation et encapsulation de la spiruline fermentée afin de produire des compléments alimentaires.
- ✓ Tester d'autres souches de bactéries lactiques pour déterminer si elles peuvent offrir des avantages supplémentaires en termes de croissance et de fermentation.
- ✓ Étudier la possibilité d'incorporer la spiruline fermentée dans d'autres produits alimentaires fonctionnels.

*Références  
Bibliographiques*

- Asghari, A., Fazilati, M., Latifi, A. M., Salavati, H., & Choopani, A. (2016). A review on antioxidant properties of Spirulina. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 3(1), 345–351.
- Ajao, O., Banwo, K., Ogunremi, O. et Sanni, A. (2021). Propriétés antimicrobiennes et potentiels probiotiques des bactéries lactiques isolées du bœuf cru à Ibadan, au Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 770-773.
- Azad, M. A. K., Sarker, M., & Wan, D. (2018). Immunomodulatory effects of probiotics on cytokine profiles. *BioMed Research International*, 2018(1), 8063647.
- AZIZI, B., ZEMAM, M., MOSRANE, M., & Bensehaila, S. (2022). *Incorporation de la spiruline dans un fromage fabriqué à partir de lait de vache.*
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, 46(11), 1086–1089.
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, 25(2), 207–210.
- Bhowmik, D., Dubey, J., & Mehra, S. (2009). Probiotic efficiency of Spirulina platensis-stimulating growth of lactic acid bacteria. *World J. Dairy Food Sci*, 4(2), 160–163.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
- Bortolini, D. G., Maciel, G. M., Fernandes, I. de A. A., Pedro, A. C., Rubio, F. T. V., Branco, I. G., & Haminiuk, C. W. I. (2022). Functional properties of bioactive compounds from Spirulina spp.: Current status and future trends. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 5, 100134.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- De Jesus Raposo, M. F., De Moraes, A. M. M. B., & De Moraes, R. M. S. C. (2016). Emergent sources of prebiotics: Seaweeds and microalgae. *Marine Drugs*, 14(2), 27.
- De Marco Castro, E., Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2019). Effect of fermentation on

## Références bibliographie

---

- enhancing the nutraceutical properties of *Arthrospira platensis* (Spirulina). *Fermentation*, 5(1), 28.
- Dueñas, M., Fernández, D., Hernández, T., Estrella, I., & Muñoz, R. (2005). Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(2), 297–304.
- Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., & Li, H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2), 345–350.
- Jamnik, P., Mahnič, N., Mrak, A., Pogačnik, L., Jeršek, B., Niccolai, A., Masten Rutar, J., Ogrinc, N., Dušak, L., Ferjančič, B. (2022). Fermented Biomass of *Arthrospira platensis* as a Potential Food Ingredient. *Antioxidants*, 11, 216. <https://doi.org/10.3390/antiox11020216>.
- Heo, K.-M., Park, J.-H., Lee, S., & Jung, Y. H. (2018). Improved extraction of bioactive compounds by cold storage of spirulina fermented by *Kazachstnia servazzii*. *Food Science and Preservation*, 25(7), 770–778.
- Hoffmann, A., Kleniewska, P. et Pawliczak, R. (2019). Activité antioxydante des probiotiques. *Archives des sciences médicales : AMS*, 17(3), 792-804. <https://doi.org/10.5114/aoms.2019.89894>.
- Lafarga, T., Fernández-Sevilla, J. M., González-López, C., & Acién-Fernández, F. G. (2020). Spirulina for the food and functional food industries. *Food Research International*, 137, 109356.
- Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X., & Dong, M. (2014). Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1. *Carbohydrate Polymers*, 102, 351–359.
- Liu, C., Tseng, K., Chiang, S., Lee, B., Hsu, W., & Pan, T. (2011). Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(12), 2284–2291.
- Manus, J., Millette, M., Uscanga, B. R. A., Salmieri, S., Maherani, B., & Lacroix, M. (2021). In vitro protein digestibility and physico-chemical properties of lactic acid bacteria fermented beverages enriched with plant proteins. *Journal of Food Science*, 86(9), 4172–4182.

## Références bibliographie

---

- Martelli, F., Alinovi, M., Bernini, V., Gatti, M., & Bancalari, E. (2020). *Arthrospira platensis* as natural fermentation booster for milk and soy fermented beverages. *Foods*, 9(3), 350.
- Mazinani, S., Fadaei, V., & Khosravi-Darani, K. (2016). Impact of *Spirulina platensis* on physicochemical properties and viability of *Lactobacillus acidophilus* of probiotic UF feta cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(6), 1318–1324.
- Min, W.-H., Fang, X.-B., Wu, T., Fang, L., Liu, C.-L., & Wang, J. (2019). Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(6), 758–766.
- Niccolai, A., Shannon, E., Abu-Ghannam, N., Biondi, N., Rodolfi, L., & Tredici, M. R. (2019). Lactic acid fermentation of *Arthrospira platensis* (spirulina) biomass for probiotic-based products. *Journal of Applied Phycology*, 31, 1077–1083.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.
- Özyurt, G., Uslu, L., Durmuş, M., Sakarya, Y., Uzlaşır, T., & Küley, E. (2023). Chemical and physical characterization of microencapsulated *Spirulina* fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Algal Research*, 73, 103149.
- Pan, D., & Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908–914.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(2), 270–276.
- Ścieszka, S., & Klewicka, E. (2019). Algae in food: A general review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(21), 3538–3547.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.
- Soni, R.A., Sudhakar, K. et Rana, R.S. (2017). Spiruline - De la croissance au produit nutritionnel : une revue. *Tendances de la science et de la technologie alimentaires*, 69, 157-171.



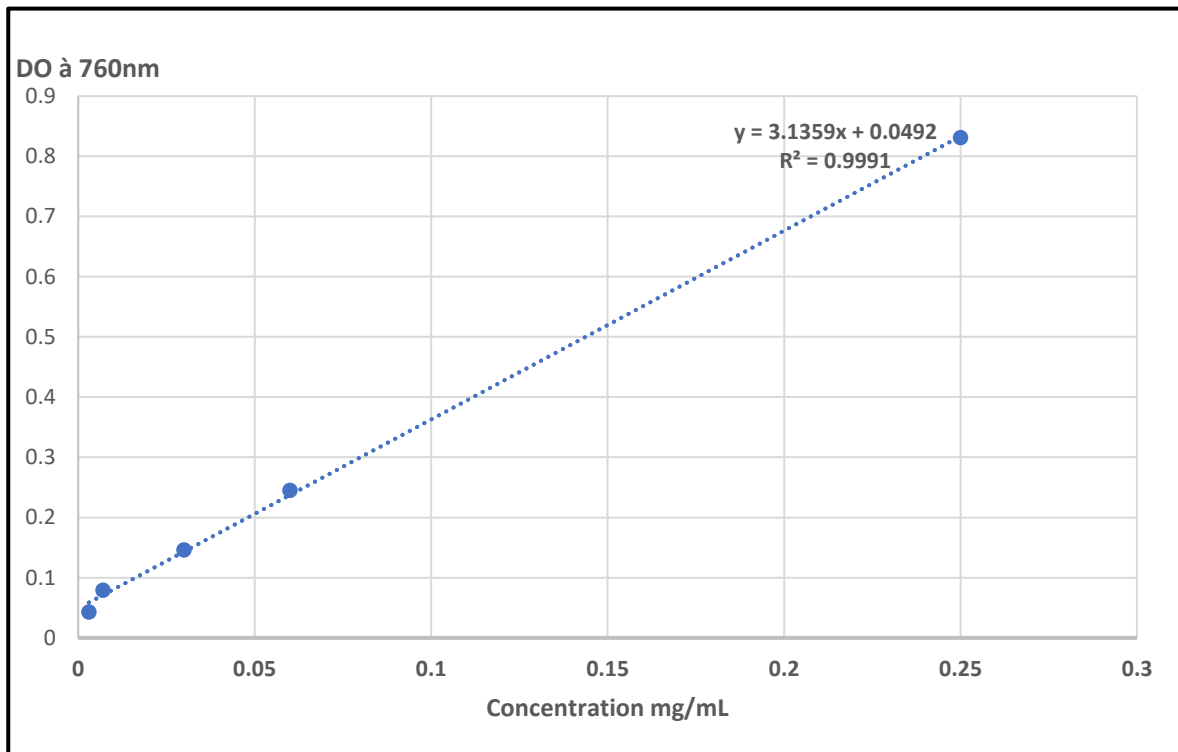
## Références bibliographie

---

- Suzuki, Y., Kosaka, M., Shindo, K., Kawasumi, T., Kimoto-Nira, H., & Suzuki, C. (2013). Identification of antioxidants produced by *Lactobacillus plantarum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77(6), 1299–1302.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., & Lü, X. (2017). Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173–1184.
- Wang, Yajie, Chen, Y., Zhang, X., Lu, Y., & Chen, H. (2020). New insights in intestinal oxidative stress damage and the health intervention effects of nutrients: A review. *Journal of Functional Foods*, 75, 104248.
- Wang, Yang, Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., & Li, W. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9(5), 521.
- Wijayanti, E. D., Setiawan, N. C. E., & Cristi, J. P. (2017). Effect of lactic acid fermentation on total phenolic content and antioxidant activity of fig fruit juice (*Ficus carica*). *1st HEALTH SCIENCE INTERNATIONAL CONFERENCE Theme: " Evidence-Based Practice in Health Science "*.
- Zhang, Z., Lv, G., Pan, H., Fan, L., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2012). Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentation of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by *Cordyceps militaris*. *Food Technology and Biotechnology*, 50(1), 32–39.

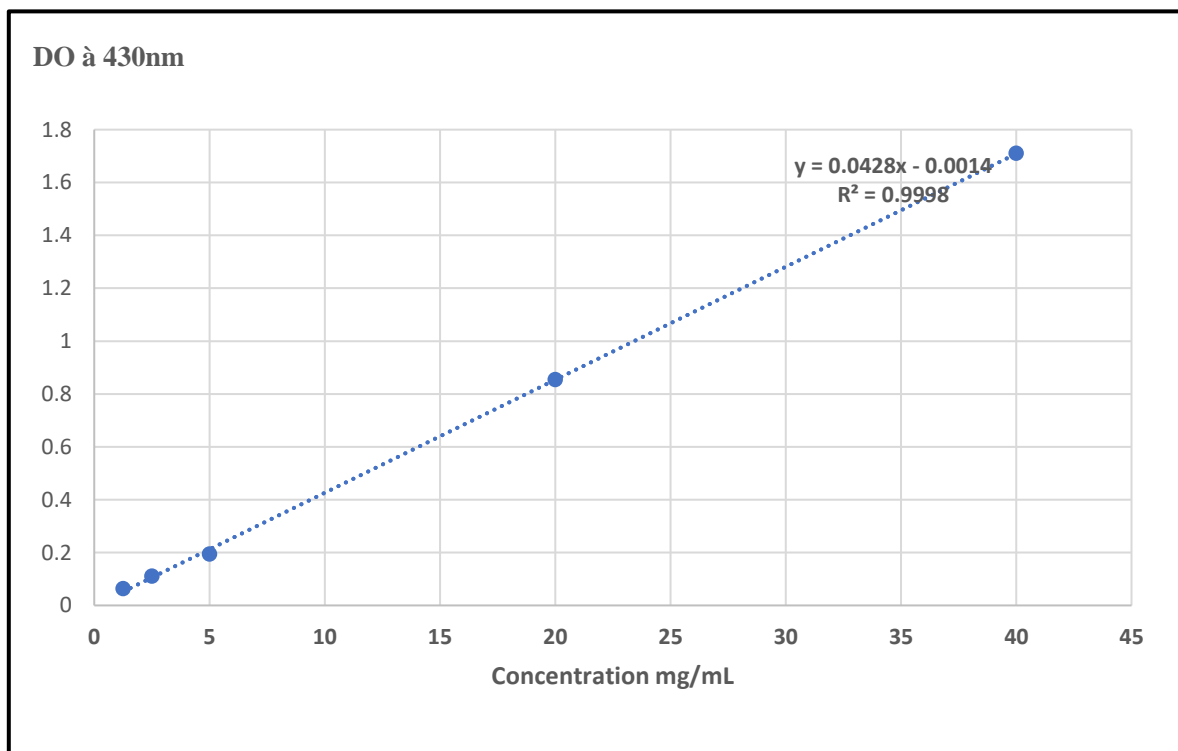
# *Annexes*

**Annexes .1.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



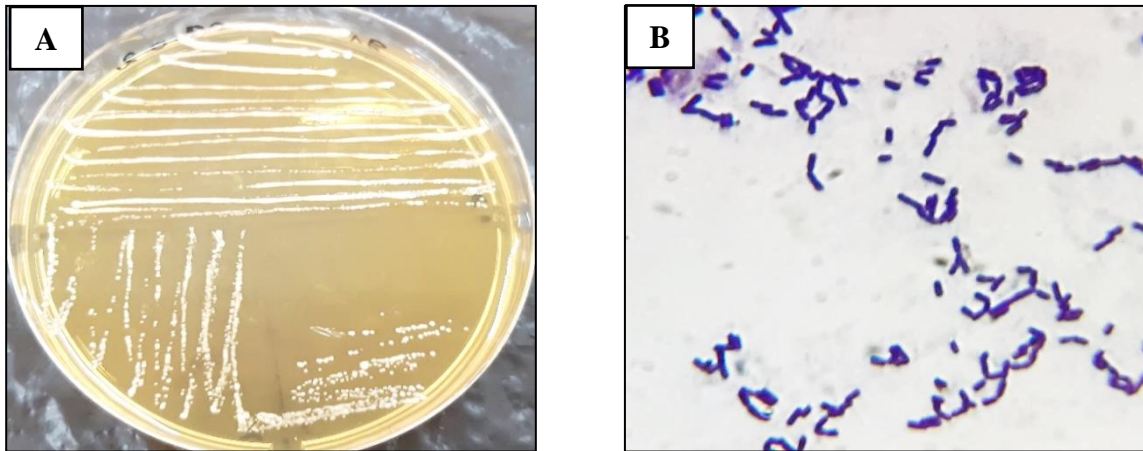
**Figure 9.** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

**Annexe. 2 .** Courbe d'étalonnage de la quercétine.



**Figure 10.** Courbe d'étalonnage de la quercétine

**Annexe 3 :** Observation macroscopique et microscopique de la bactérie *Lactobacillus* sp.



**Figure 11.** Aspects macroscopique (A) et microscopique (B) de la bactérie *Lactobacillus* sp.(Objectifx100), coloration de Gram

**Annexe 4 :** Spiruline BEHATAM



**Figure 12.** Spiruline BEHATAM sous forme de poudre

# *Fiche technique du projet*

<i>Nom et prénom</i>	MADANI Dalila Djihane
<i>Intitulé du projet</i>	<b>SPIRUFER</b>
<i>Numéro de téléphone</i>	<b>0659691057</b>
<i>Adresse e-mail</i>	<a href="mailto:Madanidjihane@gmail.com"><u>Madanidjihane@gmail.com</u></a>
<i>Ville d'activité</i>	<b>Tiaret, Algérie</b>

**Nature du projet:** Un complément alimentaire sous forme des gélules à base de spiruline fermentée par une bactérie probiotique.

### **Le problème à résoudre:**

SPIRUFER répond à un besoin croissant dans le domaine de la santé et du bien-être. Il combine la spiruline, un super-aliment riche en nutriments, avec des probiotiques pour une fermentation bénéfique. Ce produit innovant offre une solution multifonctionnelle. Il répond à la demande pour des produits de santé naturels qui soutiennent la santé générale, préviennent les maladies et favorisent un bon équilibre intestinal. Le marché des compléments alimentaires est en pleine expansion, avec une forte demande pour des solutions efficaces, innovantes et naturelles. Grâce à cette combinaison, SPIRUFER se distingue comme un produit innovant et prometteur dans un marché en pleine croissance.

### **I/ Valeurs proposées**

#### **1. Au client :**

- Notre produit SPIRUFER est naturel et de haute qualité qui rivalise le produit étranger avec un prix avantageux.
- Produit unique dans le marché algérien qui associe les bienfaits nutritionnels de la spiruline avec les avantages de la fermentation probiotique, créant ainsi une solution de santé avancée et différenciée.
- Ce produit contribue activement au bien-être général des clients en offrant un produit qui aide à prévenir les pathologies oxydatives, favorise un bon équilibre intestinal et soutient la santé globale.
- Ce produit est praticable pour les adultes et les personnes âgées.

### 1.2. Autres projets ont été ciblés pour le même problème et mis en œuvre

À ce jour, il n'existe aucun autre complément alimentaire sur le marché qui associe ces deux éléments (spiruline et probiotique) de manière aussi efficace.

### 2. Consommateur :

Ce complément alimentaire à base de spiruline fermentée par une bactérie probiotique a le potentiel d'attirer un large public de tous âges :

- Les patients atteints de déficits en vitamines et minéraux particuliers.
- Les athlètes et les amateurs de sport.
- Les utilisateurs de produits biologiques; il y a une population de plus en plus importante qui privilégie les produits biologiques et naturels. Les individus ont la possibilité de chercher des compléments alimentaires à base de spiruline afin de savourer une collation saine et biologique.
- Personnes avec des problèmes digestifs

### 3. Relation client :

- Création d'un message publicitaire puissant; le pouvoir des réseaux sociaux peut être exploité afin de communiquer avec les clients et d'accroître la visibilité du produit.
- Proposer une assistance après-vente; un service après-vente peut être offert aux clients pour assurer leur satisfaction et leur utilisation optimale du produit.

### 4. Chaînes

#### *Techniques d'information sur notre produit*

- Vente directe avec l'entreprise ou bien le fournisseur.
- A travers des publicités.
- Marketing sur les réseaux sociaux.

### 5. Partenaires

- Le fournisseur de matière première M. Aek HIRI.
- Les fournisseurs d'équipements sont des entreprises qui offrent les machines et les équipements indispensables aux opérations de production et de fabrication.
- Partenaires en Réglementation et Conformité
- Les partenaires de marketing et de vente.

### 6. Les étapes clés de la production

- Préparation et sélection des ingrédients a savoir la spiruline et les bactéries probiotiques
- Optimisation des conditions de fermentation de la spiruline par les bactéries probiotiques.
- Fabrication de spiruline fermentée
- Lyophilisation de la biomasse de spiruline fermentée.
- Encapsulation : sélectionnez le type de gélules (gélules en gélatine ou végétales)
- Vérification de la qualité des gélules
- Conditionnement et emballage du produit.
- Distribution et marketing du produit : Utilisation des canaux de distribution en ligne et en magasin.

### 7. Activités secondaires

- Gérer les stocks et organisation des ressources.
- Coordination des activités internes et gestion des opérations.
- Formation des employés et amélioration des compétences.
- Assurance qualité et conformité aux normes
- Gestion des relations avec les prestataires et les partenaires.
- L'innovation est favorisée par la recherche et le développement afin d'améliorer le produit ou le service.
- Gestion Financière et Comptabilité
- Promotion et marketing du produit ou du service.
- Management des activités logistiques et de la distribution.

### 8. Les ressources clés pour réaliser le projet

<i>Ressources</i>	<i>Source</i>	<i>Fournisseur</i>
Spiruline	Locale	Aek HIRI
Les bactéries lactiques	Locale	/
Machines de fermentation	Etrangère	/
Machines d'encapsulation	Etrangère	/
Locale de stock Transport et distribution	Locale	/



## 9. Ressources humaines

Gérant	1
Comptable	1
Employés	4
Agent de sécurité	2
Femme de ménage	2

## 10. Structure des coûts

Frais d'établissement	100 000,00 DA
Frais d'ouverture de compteurs (eaux, gaz,)	50 000,00 DA
Logiciels, formations	120 000,00 DA
Dépôt marque, brevet, modèle	50 000,00 DA
Droits d'entrée	2 000 000,00 DA
Location fonds de commerce ou parts	1 000 000,00 DA
Droit au bail	600 000,00 DA
Caution ou dépôt de garantie	200 000,00 DA
Frais de dossier	20 000,00 DA
Frais de notaire ou d'avocat	80 000,00 DA
Enseigne et éléments de communication	290 000,00 DA
Location achat immobilier	1 000 000,00 DA
Travaux et aménagements	1 500 000,00 DA
Matériel de laboratoire	40 000 000,00 DA
Matériel de bureau	400 000,00 DA
Stock de matières et produits	4 000 000,00 DA
Trésorerie de départ	4 000 000,00 DA
<b>Total</b>	<b>53 620 000, 00 DA</b>

### 11. Les frais du projet

Assurances	500 000,00 DA
Téléphone, internet	120 000,00 DA
Autres abonnements	20 000,00 DA
Carburant, transports	100 000,00 DA
Frais de déplacement et hébergement	50 000,00 DA
Eau, électricité, gaz	300 000,00 DA
Mutuelle	100 000,00 DA
Fournitures diverses	100 000,00 DA
Entretien matériel et vêtements	100 000,00 DA
Nettoyage des locaux	30 000,00 DA
Budget publicité et communication	300 000,00 DA
<b>Total</b>	<b>1 720 000, 00 DA</b>

### 12. Salaires des salariés et des fonctionnaires

Salaires employés	200 000,00 DA
Rémunération nette dirigeant	50 000,00 DA

### 13. Revenu total

Nombre d'unités produites par mois	200
Prix de vente	1200 DA
Revenu total	240000, 00 DA

### 14. Pourcentage d'augmentation du chiffre d'affaires entre chaque mois

Première année	3 %
Deuxième année	4 %
Troisième année	6 %

# *Résumé*

