

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية – الحراش-الجزائر

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach -Alger



Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences
Agronomiques

Option : Technologie Alimentaire et Nutrition Humaine.

Thème :

Optimisation des paramètres influençant l'extraction des protéines
de la poudre de spiruline et ses propriétés fonctionnelles par la
Méthodologie de Surface de Réponse.

Présentée par : Boukhari Nabil

Soutenu le : 30 /01 /2020

Jury :

Président :	Mr. Guezlane Louardi.	Professeur (ENSA, Alger)
Directeur de thèse :	Mr. Ferradji A.	Professeur (ENSA, Alger)
Co-Directrice :	Mme Doumandji A.	Professeur Université Blida 1
Examineurs :	Mr Megatli Smain	MCA, Université Blida 1
	Mr Bitam Arezki	Professeur (ENSA, Alger)
	Mr Ait Ouazzou Abdennour	MCA, Université Alger 1

Année universitaire 2018-2019

REMERCIEMENTS

Je voudrais exprimer ma reconnaissance et ma gratitude au Professeur Ferradji qui, sans préalables, a accepté de m'encadrer, de m'orienter et me « supporter ».

Je remercie le professeur Doumandji A pour sa précieuse contribution dans ce travail

Mes plus profonds Remerciements AU Professeur Guezlane, qui pour la deuxième fois, me gratifie du grand honneur par la présidence du jury.

Messieurs Bitam, Megatli et Ait Ouazzou, mes plus Sincères Remerciements, c'est un grand honneur de vous voir évaluer mon modeste travail.

À ma chère femme qui des années durant m'a énormément soutenu, les mots ne sauraient exprimer ma gratitude.

Aussi, je remercierais vivement mesdemoiselles Bouchareb Meriem, Ait Chaouche Feriel et Belhachat Djamilia pour l'aide, le soutien et les encouragements dont j'ai fait l'objet.

Mr Ferhat Ahmed Amine, a aussi contribué dans la réalisation de ce travail où il n'a pas hésité à mettre en œuvre ses connaissances.

À toute ma famille qui m'a longtemps soutenu et encouragé.

J'ai toujours trouvé aide et assistance chez l'ensemble du personnel du département de Technologie Alimentaire auxquels j'adresse ma gratitude.

Je remercie aussi Mr Mellah Nabil, directeur général de la société Merinal el Mme Djellab Fatma Zohra et son équipe du laboratoire R&D de la société Univers Détergent pour leur précieuse aide.

DÉDICACES



Sommaire

Partie I. Etude bibliographique	6
I.1. Les protéines	7
I.1.1 Les protéines d'origine animale	7
I.1.2 Les protéines d'origine végétale	8
I.1.3. Les nouvelles sources de protéines	9
I.2. La spiruline	11
I.2.1 La photosynthèse	11
I.2.2 L'assimilation de l'azote	14
I.2.3. La valeur nutritionnelle	15
I.2.3.1 Les acides aminés indispensables	15
I.2.3.2. Les acides gras insaturés et polyinsaturés	17
I.2.3.3. Les glucides	17
I.2.3.4. Les vitamines	18
I.2.3.5 Les minéraux	18
I.2.3.6. Les oligoéléments	19
I.2.4. La valeur sensorielle	20
I.2.4.1. La vue	20
I.2.4.2. Le toucher	20
I.2.4.3. Le goût	21
I.2.4.4. L'odeur	21
I.2.5. La valeur fonctionnelle	22
I.2.5.1 Le calcium Spirulan	22
I.2.5.2 La phycocyanine	22
I.2.6 La spiruline dans l'industrie agroalimentaire	24
I.2.7. Les propriétés fonctionnelles des protéines	26
I.2.7.1. La capacité de rétention d'eau	29
I.2.8. Les isothermes de sorption de la poudre de spiruline	30
I.2.9. L'extraction des protéines	35
I.2.9.1. Les ultrasons dans l'extraction des protéines	37
I.2.9.2. L'optimisation de l'extraction des protéines	40
I.2.9.2.1. Evaluation du modèle	41

I.2.9.2.2 Evaluation économique de l'extraction des protéines.	42
I.2.9.2.2.1 Réduction des coûts de production	43
I.2.9.2.2.2 Cycle de croissance	43
I.2.9.2.2.3 Méthodes de récolte	44
I.2.9.2.2.3 Augmentation de la rentabilité	45
I.2.9.2.2.4 Situation géographique	45
I.2.9.2.2.5 Réduction les coûts d'extraction	46
Chapitre II. Matériel et méthodes.	47
II.1. Matériel végétal.	48
II.2. Optimisation de l'effet des ultrasons.	48
II.2.1 Méthodologie de surface de réponse.	48
II.2.2. Evaluation du modèle	49
II.2.3. Profil de désirabilité	49
II.3. Détermination des propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline.	50
II.3.1. La capacité de rétention d'eau.	50
II.3.2. Détermination de la capacité de rétention d'huile.	51
II.4. Détermination des isothermes de sorption.	53
II.4.1. Procédure expérimentale	53
II.4.2. Modélisation mathématique.	53
II.4.3. Evaluation du modèle.	54
II.4.4. La Chaleur iso stérique de sorption.	54
II.5. Extraction de protéines	55
II.5.1 Teneur en protéines.	55
II.5.2. Optimisation de l'extraction des protéines.	56
II.5.3. Calcul du coût d'extraction.	58
Chapitre III. Résultats et discussion	59
III.1. Détermination des propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline.	60
III.1.1. Optimisation de l'effet des ultrasons sur la capacité de rétention d'eau de la spiruline.	60
III.1.1.1. Ajustement du modèle.	60
III.1.1.2 Analyse des surfaces de réponse.	63
III.1.1.3 Résultats du modèle.	65
III.1.1.4 Optimisation de la capacité de rétention d'eau.	66
III.1.1.4.1 pH	70
III.1.1.4.2 Energie de sonication.	70

III.1.1.4.3 Le temps de sonication.....	70
III.1.2. Optimisation de l'effet des ultrasons sur la capacité de rétention d'huile de la spiruline.....	73
III.1.2.1 Ajustement du modèle.....	73
III.1.2.2 Analyse des surfaces de réponse.	75
III.1.2.3 Résultats du modèle.	77
III.1.2.4 Optimisation de la capacité de rétention d'huile.....	78
III.1.2.4.1. Température.....	79
III.1.2.4.2. Energie de sonication.....	80
III.1.2.4.3 Temps de sonication.....	80
III.2. Isothermes de sorption de la poudre de spiruline.....	85
III.2.1. Détermination de l'eau non-solvante.	89
III.2.2. Effet de la température.....	91
III.2.3. Modélisation des isothermes de sorption.	92
III.2.3.1Ajustement des valeurs expérimentales au modèle GAB.....	93
III.2.3.2 Valeurs thermodynamiques selon le modèle GAB à 5 paramètres.	95
III.2.4. La chaleur iso stérique de sorption.	95
III.3. Optimisation de l'extraction des protéines.....	96
III.3.1 Ajustement du modèle.....	96
III.3.2 Analyse des surfaces de réponse.	99
III.3.3 Résultat du modèle.	102
III.3.4 Optimisation de l'extraction.....	103
III.3.4.3.1 Ratio solide liquide.....	108
III.3.4.3.2 Energie de sonication.....	108
III.3.4.3.3 Temps de sonication.....	108
III .3.5. Calcul du coût d'extraction.	110
Conclusion.....	114
Références bibliographiques.	1

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Composition générale de différentes sources d'alimentation humaine et de certaines algues (% poids sec).</i>	10
<i>Tableau 2. Composition vitaminique de la spiruline par rapport à l'Apport Nutritionnel Conseillé (ANC).</i>	18
<i>Tableau 3. Taux de couverture de l'ANC en minéraux par 10 g de spiruline.</i>	19
<i>Tableau 4. Récapitulatif des molécules fonctionnelles de la spiruline.</i>	23
<i>Tableau 5. Propriétés des protéines : description, mécanisme d'action et application.</i>	28
<i>Tableau 6. Niveaux des variables pour la capacité de rétention d'eau.</i>	50
<i>Tableau 7. Protocole expérimental pour l'optimisation de la capacité de rétention d'eau.</i> ...	51
<i>Tableau 8. Niveaux des variables pour la capacité de rétention d'huile.</i>	52
<i>Tableau 9. Protocole expérimental pour l'optimisation de la capacité de rétention d'huile.</i> .	52
<i>Tableau 10. Niveaux des variables pour l'extraction des protéines</i>	57
<i>Tableau 11. Protocole expérimental pour l'optimisation de l'extraction des protéines.</i>	57
<i>Tableau 12. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline.</i>	60
<i>Tableau 13. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline.</i>	62
<i>Tableau 14. Le plan expérimental de Box-Behnken et les valeurs de réponses observées pour la capacité de rétention d'eau.</i>	65
<i>Tableau 15 . Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline</i>	72
<i>Tableau 16. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.</i>	73
<i>TABLEAU 17. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.</i>	75
<i>Tableau 18. Capacité de rétention d'huile en fonction des différentes combinaisons.</i>	78
<i>Tableau 19. Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.</i>	85
<i>Tableau 20. Résultats de l'équation de GAB à 3 paramètres.</i>	93
<i>Tableau 21. Valeurs des indices statistiques pour l'évaluation du modèle GAB.</i>	94
<i>Tableau 22. Résultats de l'équation GAB à 5 paramètres.</i>	95
<i>Tableau 23. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.</i>	97
<i>Tableau 24. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.</i>	98
<i>Tableau 25. Résultats du modèle en fonction des différentes combinaisons.</i>	103
<i>Tableau 26. Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.</i>	110

Liste des figures

Figure 1 . Séparation et transfert d'énergie par les pigments. _____	11
Figure 2. Cycle de Calvin _____	12
Figure 3. Synthèse des acides aminés par la spiruline. _____	15
Figure 4. Profil en acides aminés de la spiruline par rapport à l'œuf et au grain de soja. ____	16
Figure 5. Les propriétés fonctionnelles des protéines et les facteurs les influençant _____	27
Figure 6. Carte de stabilité des aliments en fonction de l'activité de l'eau. _____	32
Figure 7. Les différents types des isothermes de sorption. _____	33
Figure 8. Techniques utilisées dans l'extraction des protéines à partir des microalgues ____	37
Figure 9 . La paroi cellulaire de la spiruline. _____	38
Figure 10. Image d'une microscopie électronique à balayage de la spiruline avant exposition aux ultrasons (A1) contrôle x1000 ; (A 2) contrôle X2000 . Après exposition aux ultrasons (B1) X1000; (B2) X 2000. _____	39
Figure 11. Représentation expérimentale d'un Box-Benhken Design à 3 paramètres _____	40
Figure 12. Observation microscopique des filaments de spiruline _____	45
Figure 13 Obtention de la concentration de protéines à partir de la courbe d'étalonnage. _	56
Figure 14. Diagramme de Pareto des effets pour la capacité de rétention d'eau. _____	61
Figure 15. Valeurs observées et valeurs prévues de la capacité de rétention d'eau de la poudre de Spiruline. _____	61
Figure 16. Surfaces de réponse 3D de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline en fonction (a) du pH et du temps de sonication, (b) de l'énergie et du temps de sonication, (c) du pH et de l'énergie de sonication. _____	64
Figure 17. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central. _____	67
Figure 18. Tracé de contour en 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximal. _____	68
Figure 19. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau minimal. _____	69
Figure 20. Profil de la fonction de désirabilité de la capacité de rétention d'eau , (a) pH, (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication. _____	71
Figure 21. Diagramme de Pareto des effets pour la capacité de rétention d'huile. _____	74
Figure 22. Valeurs observées (petits cercles) et valeurs prévues (ligne droite) de la capacité de rétention de l'huile. _____	74
Figure 23 . Surfaces de réponse 3D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline en fonction (a) de la température et de l'énergie de sonication, (b) de la température et du temps de sonication, (c) du temps et de l'énergie de sonication. _____	76
Figure 24. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central. _____	81
Figure 25. Tracé de contour 2D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximum. _____	82
Figure 26. Tracé de contour 2D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau minimum. _____	83

<i>Figure 27. Profil de désirabilité de la capacité de rétention d'huile, (a) température, (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication</i>	84
<i>Figure 28. Isotherme de sorption de la poudre de spiruline à 25°C (a) et 40°C(b).</i>	86
<i>Figure 29. Poudre de spiruline encapsulée en gélules.</i>	89
<i>Figure 30. Détermination des conditions optimales de stockage à partir de la courbe des isothermes de sorption de la poudre de spiruline à 25°C.</i>	90
<i>Figure 31. Effet de la température sur les isothermes de sorption pour la poudre de spiruline à 25°C et 40°C.</i>	91
<i>Figure 32. Les teneurs en eau observées et prévues selon le modèle de GAB à 25°C (a) et 40°C (b).</i>	94
<i>Figure 33. Chaleur iso stérique nette de sorption de la spiruline.</i>	96
<i>Figure 34. Diagramme de Pareto pour les effets de l'extraction de protéines.</i>	97
<i>Figure 35. Valeurs observées et valeurs prévues pour l'extraction des protéines.</i>	98
<i>Figure 36. Surfaces de réponse 3D du taux de protéines de la poudre de spiruline en fonction (a) du ratio solide-liquide et énergie de sonication, (b) du ratio solide-liquide et du temps de sonication, (c) du temps et de l'énergie de sonication.</i>	101
<i>Figure 37. Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central.</i>	105
<i>Figure 38. Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximum.</i>	106
<i>Figure 39 . Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien de deux paramètres au niveau central, le troisième au niveau minimum.</i>	107
<i>Figure 40. Profil de désirabilité pour l'extraction des protéines, (a) ratio solide liquide (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication.</i>	109
<i>Figure 41 : Réalisation du modèle mathématique pour l'obtention du coût de l'extraction</i>	112
<i>Figure 42 : Résultat du modèle pour le calcul du cout d'extraction.</i>	112

Liste des abréviations

AGE : Acides Gras Essentiels

ANC : Apport Nutritionnel Conseillé

ADP: Adénosine Di Phosphate

ANOVA : Analyse de la Variance

ATC : Acide TrichloroAcétique

ATP : Adénosine Tri Phosphate

BBD: Box-Behnken Design

BET: Brunauer, Emmett et Teller

GAB : Guggenheim, Anderson, de Boer

GDH : Glutamate Déshydrogénase e de la

GOCAT (glutamine synthétase) et du ()

GS : glutamate synthétase

kHz : Kilohertz

MSR: Méthodologie de Surface de Réponse

MRD : Déviation Relative Moyenne

MRSE: Erreur Quadratique Moyenne

NADPH: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

Nm: Nano mètre

qst : chaleur nette de sorption iso stérique

Qst : chaleur totale de sorption

R²: coefficient de détermination

X_m: teneur en humidité de la monocouche

ΔH₀: chaleur de vaporisation de l'eau

ΔH₁: différence entre la chaleur de sorption de la monocouche et celle de la multicouche.

ΔH₂: différence entre la chaleur latente de condensation d'eau et chaleur de sorption de la multicouche.

Introduction

Les protéines occupent une place importante dans l'alimentation vue toutes les les fonctions qu'elles remplissent dans la vie des cellules rendant leur disponibilité dans l'alimentation essentielle dans la vie. Avec le changement climatique et la croissance démographique, un défi important se pose pour l'alimentation. Il s'agit de produire plus avec moins de ressources (**Schneider et al.**, 2011; **Wu et al.**, 2014).

De nos jours, les ressources destinées à la production de protéines animales sont les plus importantes pour l'alimentation humaine. La production de 1 kg de protéines animales nécessite 4,9 kg de protéines végétales (**Guéguen et al.**, 2016). Donc, Il y a donc une pression importante sur l'agriculture par l'intensification des cultures (**De Boer et Aiking**, 2011). Afin de répondre au défi alimentaire mondial, les chercheurs sont à la recherche de nouvelles sources de protéines en accordant plus d'attention aux sources de protéines non conventionnelles (**Becker**, 2007). Au cours des dernières années, les chercheurs ont privilégié les microalgues, en particulier les cyanobactéries, en raison de leur teneur élevée en protéines. Les cyanobactéries peuvent être trouvées dans les glaciers terrestres, aériens, marins ; environnement d'eau saumâtre et d'eau douce. En conséquence elles ne concurrencent pas l'agriculture traditionnelle dans l'eau et la terre. Parmi les microalgues, la Spiruline (*Arthrospira platensis*) attire une plus grande attention grâce à sa composition. Elle contient jusqu'à 70% de protéines, de nombreuses vitamines, des sels minéraux, des acides gras et la plupart des acides aminés, ce qui en fait une source unique et complète de protéines (**Mahajan et Ahluwalia**, 2010). La spiruline est autotrophe, elle ne nécessite que des composés inorganiques et de la lumière comme source d'énergie pour sa croissance et son développement (**Pignolet et al.**, 2013). Dans les pays occidentaux, les produits à base d'algues sont également devenus populaires sans, pour autant l'existence d'une tradition de leur utilisation. La spiruline est souvent utilisée comme complément pour prévenir les carences alimentaires dans certains pays développés (**Finamore et al.**, 2017). Dans certains pays en développement, la spiruline est utilisée pour lutter contre la malnutrition (**Simpore et al.**, 2005). Malgré sa richesse nutritionnelle, la consommation de la spiruline se trouve en butte à ses qualités sensorielles qui diminuent son acceptabilité par le consommateur. Cependant, son incorporation dans un aliment contribue à améliorer son acceptabilité en dissimulant les propriétés indésirables (**Vanthoor-Koopmans et al.**, 2013). Pour atteindre cet objectif, il est nécessaire, d'abord, d'étudier sa stabilité physico- chimique et microbiologique.

La stabilité physico-chimique et microbiologique dépend de la teneur en humidité des aliments séchés et des conditions de stockage (**Deshmukh et al.**, 2017). Les isothermes de sorption sont réputées être un bon outil pour étudier le comportement de l'état de l'eau pendant le séchage et le stockage des aliments (**Muzaffar et Kumar**, 2016).

L'eau étant connue pour être un solvant pour les molécules ioniques et les molécules polaires, sa capacité à dissoudre ces substances diminue considérablement et disparaît même lorsqu'elle est adsorbée. Cette diminution du pouvoir solvant de l'eau a donc été confirmée pour les cellules de levure et l'amidon (**Duprat et Guilbot**, 1975). De leur côté, Guilbot et Lindenberg (1960) ont appliqué ces propriétés de l'eau adsorbée pour déterminer avec succès la relation entre le pouvoir solvant de l'eau et les caractéristiques de la courbe de sorption. Ces chercheurs ont donc souligné l'importance du point critique qui correspond à la teneur en eau optimale et à l'activité de l'eau où toutes les réactions d'altération sont inhibées lors du stockage des aliments (**Guilbot et Lindenberg**, 1960). Parmi les travaux réalisés sur les isothermes sorption de la spiruline, on peut citer ceux de **Desmorieux Decaen** (2005) qui ont conclu que la poudre de spiruline est caractérisée par une forte hygroscopie et ceux de **Oliveira et al.** (2009a) qui ont rapporté que l'isotherme de sorption est contrôlée par l'enthalpie. Il est à noter qu'il n'existe que peu d'études sur la détermination de la teneur en eau des solvants et sur les conditions optimales de stockage de la poudre de spiruline.

L'incorporation de la spiruline dans les produits alimentaires obéit à un premier objectif nutritionnel, à savoir, l'enrichissement en protéines. Or, les protéines exercent aussi un effet sur l'acceptabilité de l'aliment en améliorant sa texture, sa couleur et sa durée de vie ; ce sont les propriétés fonctionnelles des protéines. Ces propriétés, dues à la structure hétérogène des protéines, contribuent à la qualité sensorielle des aliments (**Zayas**, 2012). En effet, la nature amphiphile des protéines leur permet d'interagir avec les autres composants de l'aliment avec un impact important sur le goût et la texture (**Alves et Tavares**, 2019). En conséquence, l'utilisation des protéines dans l'industrie agroalimentaire reste conditionnée par leurs propriétés technofonctionnelles (**Pereira et al.**, 2018). Ces propriétés peuvent, non seulement, contribuer au processus, mais aussi d'affecter le choix du consommateur à travers les propriétés sensorielles du produit fini (**Lupatini Menegotto et al.**, 2019). La même source signale la rareté des travaux sur les propriétés fonctionnelles des protéines de la spiruline et la nécessité d'en entreprendre afin d'exploiter la richesse nutritionnelle de la spiruline. Dans ce sens, d'autres auteurs proposent l'isolation des protéines avant leur incorporation dans le but d'éliminer tout

constituant indésirable pouvant influencer ou diminuer la digestibilité et la biodisponibilité de certains nutriments (**Demirhan et Özbek**, 2013). Dans cet objectif, l'extraction des protéines de la spiruline est intéressante ; elles pourraient être incorporées aux produits alimentaires au lieu de la biomasse entière. Outre le fait nutritionnel, les protéines peuvent améliorer l'acceptabilité des produits alimentaires grâce à leurs propriétés fonctionnelles, telles que l'émulsification, l'absorption d'huile et d'eau (**Ogunwolu et al.**, 2009). En conséquence, la valeur nutritionnelle et l'acceptabilité des aliments sont assurées. Il est, néanmoins, nécessaire de signaler que les travaux sur la désodorisation de la poudre spiruline se trouvent en butte à la nécessité d'utilisation de solvants qui peuvent influencer les propriétés fonctionnelles. Ce processus demeure difficile vu que les composants odorifères proviennent de plusieurs composants de la spiruline tels que les acides gras, les pigments et les protéines (**Cuellar-Bermúdez et al.**, 2017).

Malgré cette richesse nutritionnelle et ces propriétés fonctionnelles, la consommation de spiruline n'a pas fait l'objet d'une forte demande ; ses coûts de production restent élevés par rapports, à titre d'exemple, aux protéines de soja (**Soto-Sierra et al.**, 2018). Pour surmonter cet obstacle, les auteurs ont proposé deux solutions.

La première consiste à améliorer la rentabilité du processus sans influencer le prix par l'optimisation en utilisant la Méthodologie de Surface de Réponse (MSR) ; c'est un ensemble de techniques mathématiques et statistiques dont le but est d'améliorer le processus dans lequel la réponse désirée doit être optimisée (**Baş et Boyacı**, 2007). En outre, l'application de la Méthodologie Surface de Réponse à l'optimisation des procédures analytiques est très bénéfique en raison de la génération d'une grande quantité d'informations à partir d'un petit nombre d'expériences (**Bezerra et al.**, 2008). Dans une étude sur l'optimisation de l'extraction des protéines de la spiruline, la teneur en protéines a significativement augmenté, les trois paramètres utilisés dans cette étude sont le pH, le temps de solubilisation et la concentration de la biomasse (**Parimi et al.**, 2017).

La deuxième solution est l'application de nouvelles techniques d'extraction ; les coûts d'extraction représentent 50% à 60% du coût total (**Vermuë et al.**, 2018). Dans ce sens, l'utilisation des ultrasons semble répondre à cet objectif. En effet, c'est une technique simple, économique et écologique, car elle évite l'utilisation excessive de solvants (**Nazari et al.**, 2018). Certaines études ont récemment révélé que l'utilisation des ultrasons augmentait la

concentration de protéines de la spiruline (**Safi et al.**, 2014a). Une autre étude montre l'effet positif du temps de sonication et de l'énergie de sonication sur le rendement en protéines (**Lupatini et al.**, 2017).

En Algérie, pays semi-aride où 47% de l'apport en protéines est importé (**Akçay et Karasoy**, 2017), de vastes étendues désertiques sont disponibles et adaptées à la production de spiruline. Cela semble être l'alternative au défi alimentaire en Algérie en augmentant l'apport local en protéines soumis au problème climatique de la faible pluviométrie. La spiruline est produite à petite échelle dans le sud de l'Algérie. Après collecte, elle est soumise à un séchage au solaire et vendue sous forme de poudre comme complément alimentaire. Certains auteurs ont étudié l'incorporation de spiruline dans le couscous, plat traditionnel local. Cette étude a abouti à un produit riche avec des caractéristiques technologiques et organoleptiques satisfaisantes (**Doumandji et al.**, 2012). Dans une autre étude, la poudre de spiruline a été incorporée dans mélange de zeste d'orange, de jus d'orange lyophilisé et de poudre de dattes. Un mélange de 10%, 5%, 5% et 80% respectivement a reçu une meilleure acceptabilité (**Benahmed Djilali et al.**, 2011).

Le but de notre travail est, tout d'abord de déterminer les isothermes de sorption de la poudre de spiruline. Ensuite, nous procéderons à l'optimisation des propriétés fonctionnelles et de l'extraction des protéines de la poudre de spiruline cultivée en Algérie en utilisant la méthodologie de Surface de Réponse (MSR).

Pour cela, nous avons réparti notre travail en trois parties.

Une première partie consacrée à une étude bibliographique sur les protéines, leurs rôles physiologiques et nutritionnels, ainsi qu'une présentation de la spiruline, de sa riche composition nutritionnelle, ses vertus thérapeutiques et les préalables à son incorporation dans des produits alimentaires.

Dans la deuxième partie (expérimentale) nous avons étudié les propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline. Ensuite, nous avons déterminé les isothermes de sorption de la poudre de spiruline dans le but d'étudier sa stabilité et de connaître les conditions optimales de son stockage. En fin de cette deuxième partie, nous avons étudié l'extraction des protéines à partir de la poudre de spiruline. Dans cette partie expérimentale, l'optimisation par la Méthodologie

de Surface de Réponse est utilisée dans la détermination de l'influence des ultrasons sur des propriétés fonctionnelles et sur l'extraction des protéines.

Enfin, dans la troisième partie, nous avons exposé les résultats de notre travail avec des interprétations et des comparaisons.

Partie I. Etude bibliographique

I.1. Les protéines.

Le mot protéine a pour origine le mot grec « proteois » qui signifie priorité en référence à la présence des protéines dans toutes les cellules (**Hambraeus**, 2014). Les protéines, d'un point de vue biochimique, sont des composants d'une haute complexité ou 20 acides aminés en sont les éléments constitutifs (**Tahergorabi et Hosseini**, 2017). Elles sont composées de 50 à 55% de carbone, 6 à 7% d'hydrogène, 20 à 23 % d'oxygène, 12 à 19% d'azote et 0,2 à 3 % de soufre (**Damodaran**, 2008).

Le rôle des protéines dans l'alimentation revêt une importance particulière vu toutes les fonctions qu'elles remplissent dans la vie de la cellule. En effet, ce sont des composants essentiels de la cellule remplissant des rôles physiologiques dans défense immunitaire, la réception la structure, le stockage , la transmission et la reproduction (**Hambraeus**, 2014). Elles sont impliquées dans la catalyse des réactions biochimiques, le transport membranaire, la maintenance de la structure intracellulaire et les réactions génératrices d'énergie impliquant le transport des électrons. (**Misran et Jaafar**, 2019).

Ces fonctions font des protéines un élément essentiel à la vie. Leur disponibilité dans l'alimentation devient une nécessité d'où l'importance des aliments riches en protéines. Ces aliments sont d'origine animale ou végétale.

I.1.1 Les protéines d'origine animale.

Constituées essentiellement des produits de l'élevage (viandes, œufs, lait et dérivés) ou de la pêche (poissons), elles constituent 40% de l'apport protéique dans l'alimentation humaine (**Boland et al.**, 2013).

Elles ont une meilleure valeur nutritionnelle, car contenant la plupart des acides aminés et leur digestibilité est élevée. Elles occupent aussi une place importante dans l'alimentation humaine puisque 2 milliards d'individus vivent avec un régime basé sur la viande. Ce régime nécessite plus de terres, d'énergie et de ressources en eau que le régime lacto- végétarien (**Pimentel et Pimentel**, 2007). Cependant, ce régime qui est basé sur les produits de l'élevage dont la forte pression sur les ressources a des conséquences disproportionnées sur la perte de la biodiversité, le gaspillage d'eau et le changement climatique (**Aiking**, 2011). Dans un contexte de croissance

démographique, il faut doubler la production mondiale de viandes, objectif apparemment difficile, car l'alimentation animale consomme déjà trois quarts de la biomasse produite à l'échelle mondiale (**Guéguen et al.**, 2016).

En plus de cet excès de consommation d'intrants et d'impact négatif sur l'environnement, on reproche aussi à ce régime basé sur les protéines animales de nombreuses maladies. Ainsi, le risque de cancer colorectal diminue du tiers dans le cas d'une réduction de consommation de 100g par jour de viande rouge ou de viande transformée. En général, la réduction de la consommation de viandes rouges réduit le risque d'autres cancers dont celui du sein (**McMichael et al.**, 2007).

Dans une étude EPIC (European Center of investigation for Cancer and Diet), les résultats suivants ont été constatés (**Boffetta et al.**, 2010):

1. La prise de la viande rouge ou de la viande transformée est associée à l'augmentation du risque du cancer gastrique
2. Une association significative entre le cancer du sein et la prise des acides gras saturés.
3. Une prise importante des protéines et du calcium du lait est associée à l'augmentation du risque du cancer de la prostate

Ce n'est pas le cas des protéines végétales auxquelles on attribue beaucoup de vertus.

I.1.2 Les protéines d'origine végétale

Elles fournissent 60% de l'apport calorifique mondiale (**Dini et al.**, 2012) elles consomment beaucoup moins d'eau, d'énergie et de ressources. Ainsi, 1 kg de protéines animales produites nécessite 5 kg de protéines végétales. En conséquence, la production mondiale de viandes (29 millions de tonnes) nécessite pour leur production 4 millions de km². La même production de protéines végétales n'aurait nécessité que 250 000 km² (**De Boer et Aiking**, 2011).

Consommant moins d'énergie et nécessitant moins de ressources, les protéines végétales présentent une alternative pour le problème de nutrition dans le monde. Ainsi, le riz, le maïs et le blé s'accaparent de 60% de l'apport calorifique dans le monde, avec pour moyens des économies d'échelle, l'utilisation de variétés à haut rendement et l'amélioration constantes des pratiques agronomiques et de technologies post moisson (**Dini et al.**, 2012).

En conséquence, la problématique de la nutrition dans le monde reste inchangée. Il s'agit d'augmenter la production en utilisant moins de ressources (**Schneider et al.**, 2011). Cette problématique est accentuée par la concurrence des biocarburants qui utilisent les terres agricoles destinées auparavant à la nutrition humaine. La production de biocarburant pourrait accaparer encore de 30 millions de ha surface agricole, et de 180 km³ d'eau en 2030 (**De Fraiture et al.**, 2008). En conséquence la recherche de nouvelles sources de protéines végétales semble inévitable (**Aiking**, 2011).

I.1.3. Les nouvelles sources de protéines.

Le défi de nourrir les populations en croissance avec moins de ressources a poussé des recherches de plusieurs auteurs. Parmi les solutions proposées, la culture d'algues retient l'intérêt des chercheurs pour deux principales raisons :

1. La richesse nutritionnelle des algues. Elles contiennent des acides gras insaturés, des protéines, des pigments, des vitamines, des antioxydants, des minéraux et oligoéléments.
2. La croissance des algues dans des milieux où les plantes ne peuvent pas pousser ; océans, déserts et d'autres environnements à haute salinité. Donc, la culture des algues ne va pas concurrencer les cultures traditionnelles en ressources (terre et eau).

En plus, la culture des microalgues présente l'avantage d'un meilleur rendement en protéines par rapport aux plantes cultivées comme source de protéines. Ainsi, le rendement en protéines des microalgues varie entre 4 à 15 tonnes par hectare par année contre 0,6 à 1,2 tonne pour le soja, 1 à 2 tonnes pour les légumineuses et 1,1 pour le blé (**Van Krimpen et al.**, 2013).

Si la consommation des algues par l'Homme remonte à des milliers d'années, leur culture ne remonte qu'à quelques décennies. Ainsi, les Aztèques récoltaient et séchaient les algues pour un usage alimentaire (**Al-Dhabi**, 2013), les tribus africaines autour du lac Tchad consommaient une algue bleu verte dans une sauce (**Desmorieux et Decaen**, 2005). Hormis l'extrême orient où les algues restent consommées jusqu'à ce jour, ce sont les deux seules traces de consommation d'algues dans le monde dans l'antiquité.

Cet intérêt pour les algues trouve son explication dans la richesse nutritionnelle des algues dont le Tableau 1 retrace la composition de certaines en comparaison avec certains aliments à large consommation ou réputés pour leur richesse nutritionnelle.

Il est clair qu'avec un taux de protéines pouvant atteindre 70%, les algues peuvent être considérées comme une source de protéines. Cependant, ce n'est pas le seul point favorisant cette place des algues. En effet, après étude de 10 algues, en plus de contenir 70% de protéines, certaines algues « bleu-vertes » contiennent aussi jusqu'à 60% d'acides aminés essentiels avec une digestibilité des protéines pouvant atteindre 90% (**Pignolet et al.**, 2013) .

Tableau 1 : Composition générale de différentes sources d'alimentation humaine et de certaines algues (% poids sec).

Produit	Protéines	Glucides	Lipides
Levure boulangère	39	38	1
Viande	43	1	34
Lait	26	38	28
Riz	8	77	2
Graines de soja	37	30	20
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chlamydomonas reinhardi</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus</i> sp	63	15	11

Source : (**Falquet et Urni**, 2006)

En effet, ces algues « bleu-vertes » ou cyanobactéries occupent une position taxonomique assez spéciale. Elles ont un mode de croissance autotrophe, elles peuvent faire leur propre photosynthèse, associée à un système métabolique bactérien (**Reed et al.**, 1985). En conséquence, avec des composés inorganiques aussi simples et disponibles dans la nature tels que le gaz carbonique, l'azote, le sodium, le potassium et la lumière, ces algues peuvent synthétiser des nutriments nécessaires à l'alimentation humaine comme les lipides, les protéines et les glucides (**Pignolet et al.**, 2013).

Parmi ces algues, la plus cultivée dans le monde est la spiruline. En plus de sa richesse nutritionnelle, sa culture est facile (**Sharma et al.**, 2011).

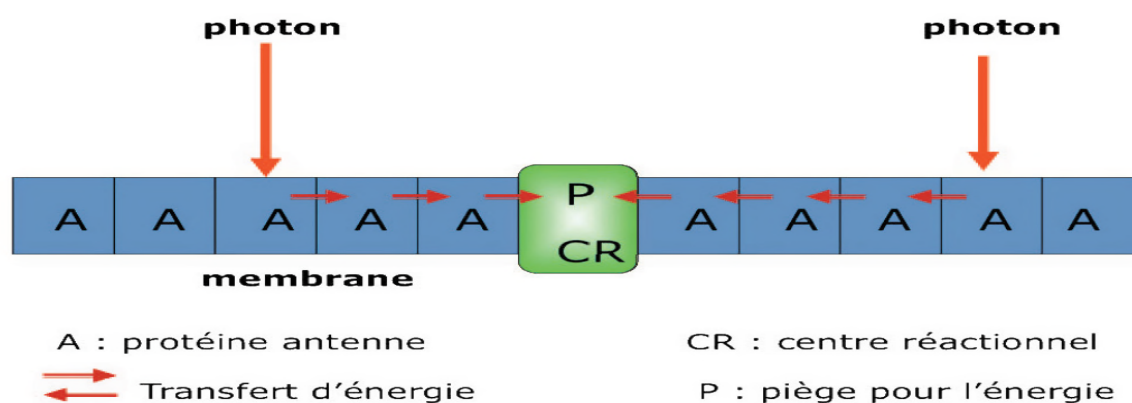
I.2. La spiruline.

La spiruline a été isolée la première fois en 1827. En 1852, on lui attribue le nom « *Arthrospira* » à cause de sa forme hélicoïdale et de sa structure multicellulaire. Les deux genres ont été réunifiés en 1932 sous la désignation de *Spirulina*. En 1989, leur classification a encore été séparée, mais la plupart des chercheurs lui attribuent le nom de spiruline (Wan *et al.*, 2016). La spiruline est, comme mentionnée précédemment, autotrophe, elle peut procéder à la photosynthèse et assimiler l'azote.

I.2.1 La photosynthèse.

Elle peut être définie comme une réaction d'oxydoréduction conduite par l'énergie solaire dans laquelle le dioxyde de carbone et l'eau sont convertis en métabolites et en oxygène (Sydney *et al.*, 2014).

Dans une première étape, l'énergie solaire est absorbée par les pigments qui transfèrent l'énergie d'excitations vers des centres réactionnels ou elle sera stockée sous forme photochimique comme le montre la Figure 1. Le centre réactionnel transforme l'énergie photochimique en énergie électrochimique par un mécanisme de séparation des charges.



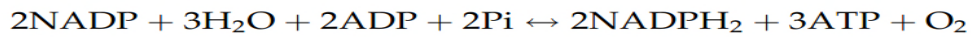
Source : (Mathis, 2015)

Figure 1 . Séparation et transfert d'énergie par les pigments.

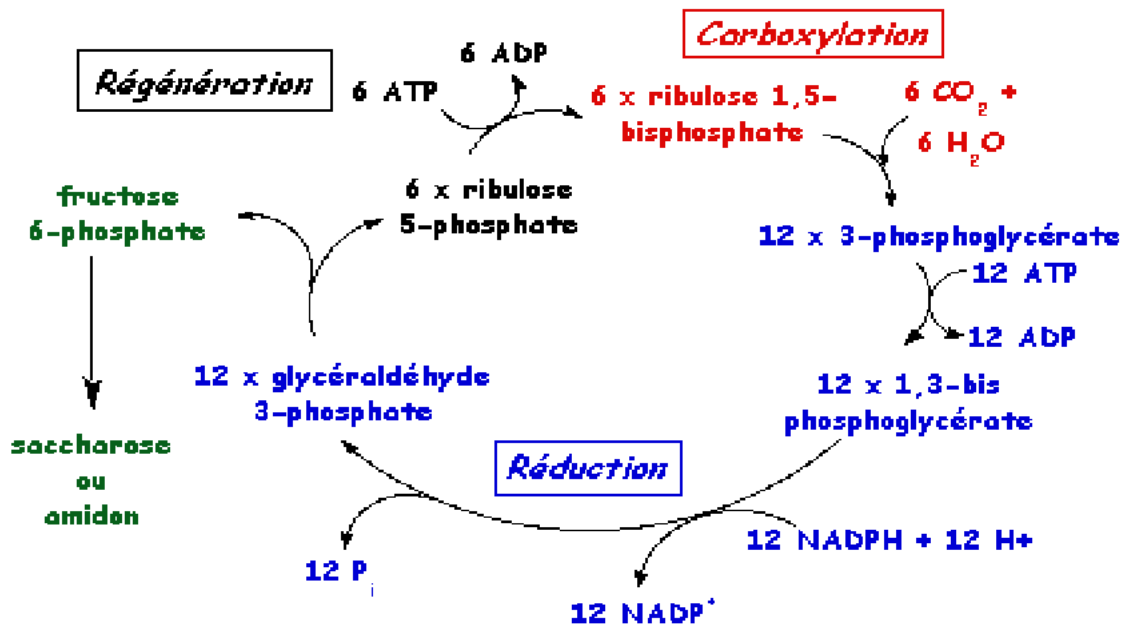
La première réaction induite est l'oxydation des molécules d'eau et la libération du proton H^+ (Mathis, 2015). Après plusieurs réactions de transfert d'électrons, l'ATP est produite et en conséquence l'assimilation du carbone peut alors commencer (Stirbet *et al.*, 2019). Chez les

microalgues, la fixation du dioxyde carbone se fait par le cycle de Calvin comme le montre la Figure 2.

Deux processus différents surviennent en fonction de la lumière. (Sydney *et al.*, 2019). Dans le processus dépendant de la lumière, l'énergie lumineuse est convertie en ATP et NADPH selon l'équation :



Ensuite, dans le processus indépendant de la lumière, le dioxyde de carbone est réduit par addition d'hydrogène pour former des hydrocarbonés comme indiqué dans l'équation :



Source : (Heldt et Piechulla, 2010)

Figure 2. Cycle de Calvin

On peut aussi repartir la photosynthèse en trois phases (Norena-Caro et Benton, 2018).

1. Carboxylation : Dans cette phase, trois molécules de CO₂ sont combinées au Ribulose 1,5-biphosphate pour produire six molécules de 3-phosphoglycerate. Cette réaction est catalysée par l'enzyme Ribulose biphosphate carboxylase/oxygénase (**Masojdek et al.**, 2004)
2. Réduction : Dans cette phase, le NADPH et l'ATP sont utilisés pour réduire 3-phosphoglycerate en triose phosphate à travers deux étapes. Tout d'abord, la phosphorylation du glycérate P pour former le diphosphate glycérate. Ensuite, la réduction de ce dernier en phosphoglycérate aldéhyde par NADPH₂ (**Sydney et al.**, 2014)
3. Régénération : Dans cette phase, c'est un ensemble de réactions biochimiques qui commencent par la production de 1,6 biphosphate à partir de phosphoglycéraldéhyde et se terminent par la phosphorylation du ribulose phosphate (**Norena-Caro et Benton**, 2018).

Les cyanobactéries sont les premiers organismes à utiliser la photosynthèse pour convertir le dioxyde de carbone en produits chimiques utiles, la capacité de fixation du CO₂ par les cyanobactéries dépasse largement celle des plantes terrestres (**Norena-Caro et Benton**, 2018). En général, les microalgues ont une meilleure capacité à convertir les photons et, ainsi, synthétiser d'importantes quantités de biomasses. Elles sont capables de fixer du CO₂ tout en capturant l'énergie solaire avec une efficacité 10 to 50 fois plus importante que les plantes terrestres (**Li et al.**, 2008). Concernant la spiruline, elle peut fixer 418 mg/l/ j (**Sydney et al.**, 2010). Comparativement aux plantes terrestres, sa capacité de fixation du carbone en grammes par mètre cube par heure (g /m³/H) est de 13,3 comparativement au maïs (3,8-7,6 g/m²/H), blé (1,8 à 3,5 g/m²/H) et de 1,2 à 1,3 g/m²/H pour l'arbre Euphorbia (**Norena-Caro et Benton**, 2018).

Il en est de même pour l'absorption de la lumière où la spiruline montre un taux d'absorption de 3% à 4% contre 1% pour les plantes terrestres (**Packer**, 2009). La diversité des pigments dans la spiruline leur permet une meilleure utilisation de la lumière visible située entre 400 nm et 700 nm comme le montre la Figure 1 (Annexes). La chlorophylle peut absorber le spectre bleu situé entre 400 et 500 nm. De leur côté, les caroténoïdes absorbent la lumière entre 400 et 550 nm (**Norena-Caro et Benton**, 2018). Avec la présence de phycocyanine, la spiruline peut absorber la lumière entre 620 nm 650 nm (**Heldt et Piechulla**, 2010). Cependant, l'absorption

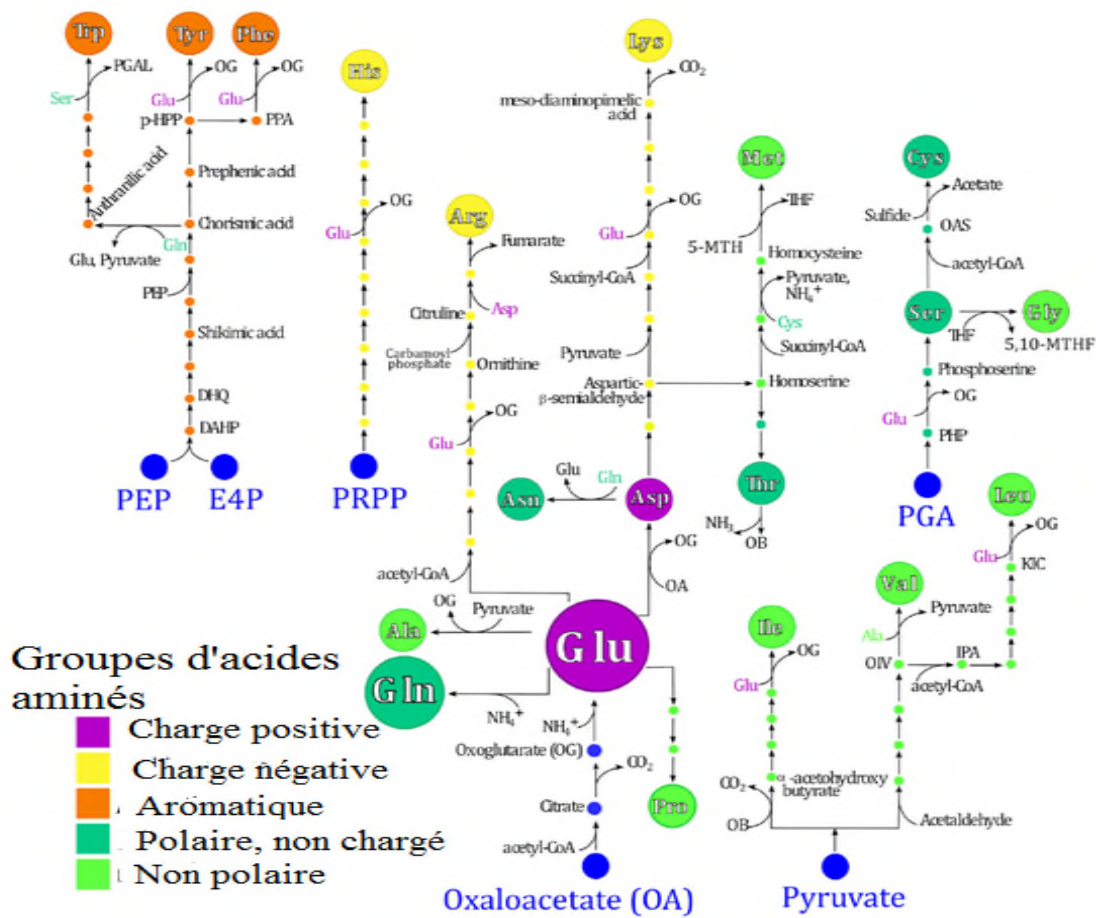
de la lumière par les plantes est située, en moyenne, entre 420nm et 450 nm (**Stirbet et al.**, 2019).

I.2.2 L'assimilation de l'azote.

La particularité de la spiruline est qu'elle peut assimiler l'azote provenant de plusieurs sources avec une priorité pour l'ammoniaque, le reste des sources n'est utilisé qu'après expiration de l'ammoniaque (**Li et al.**, 2019). L'assimilation de l'azote se fait à travers l'enzyme Glutamate Déshydrogénase (GDH) (**Boussiba**, 1989). Ensuite, la découverte de la glutamine synthétase (GS) et du glutamate synthétase (GOCAT) ont changé ce concept (**Inokuchi et al.**, 2002). L'ammoniaque est assimilée par le système enzymatique GS/GOGAT pour donner du glutamate qui à son tour, sera le donneur pour la synthèse d'autres métabolites (**Garcia-Pichel**, 2009). Une étude sur l'effet des différentes sources d'azote sur la production de la biomasse a montré un impact plus important du nitrate de sodium, suivi du nitrate d'ammonium ensuite de l'urée (**Costa et al.**, 2001). Cependant, il faut noter qu'à une concentration supérieure à 2mM, l'ammoniaque et l'urée deviennent toxiques (**Filali et al.**, 1997).

Avec la photosynthèse et l'assimilation de l'azote, la spiruline peut synthétiser les 20 acides aminés comme le montre la Figure 3. Nous remarquons que le glutamate est le plus important donneur pour la synthèse des autres acides aminés. La synthèse du glutamate est catalysée par la NADPH qui combine l'oxalo-glutarate avec l'ammonium pour former le glutamate (**Norena-Caro et Benton**, 2018). Cette richesse de la spiruline ne peut, cependant constituer une source pour l'alimentation humaine que si elle répond à d'autres critères. En effet, depuis toujours, l'alimentation est considérée par l'Homme comme assurant la couverture des besoins physiologiques, permettant la croissance, le développement et le maintien des tissus et de l'organisme (c'est la valeur nutritionnelle de l'aliment). A cet aspect, s'ajoute le sentiment de satisfaction et de bien-être qu'elle procure au consommateur, constituant un élément tout aussi fondamental à l'équilibre physiologique et psychique de chaque individu qu'on peut qualifier de valeur sensorielle d'un aliment. Toutefois, les connaissances scientifiques récentes montrent qu'au-delà de la couverture des besoins nutritionnels, l'alimentation peut également moduler certaines fonctions de l'organisme et ainsi jouer un rôle bénéfique ou délétère sur la santé humaine, il s'agit de la valeur fonctionnelle de l'aliment (**Hyardin et al.**, 2007). Le même auteur ajoute que le concept de nutrition s'enrichit d'une approche où l'alimentation n'est plus

un élément de survie, c'est aussi la satisfaction alimentaire et la prévention des effets néfastes dus aux carences ou aux excès alimentaires (**Hyardin et al.**, 2008)



Source : (**Norena-Caro et Benton**, 2018)

Figure 3. Synthèse des acides aminés par la spiruline.

I.2.3. La valeur nutritionnelle.

L'aliment fut caractérisé par ses « propriétés nutritionnelles », capacité à couvrir, chez l'homme, les besoins de base en énergie d'une part, en substances essentielles d'autre part. (**Julia et al.**, 2017). Donc, à travers sa composition nutritionnelle, on peut déterminer la capacité de la spiruline à constituer un aliment pouvant remplir la fonction alimentaire.

I.2.3.1 Les acides aminés indispensables.

Le profil en acides aminés de la spiruline montre une disponibilité des acides aminés essentiels (**Vanthoor-Koopmans et al.**, 2014).

La Figure 4 montre le profil en acides aminés de la spiruline en comparaison avec les œufs et le grain de soja, aliments de référence en matière de richesse en acides aminés.

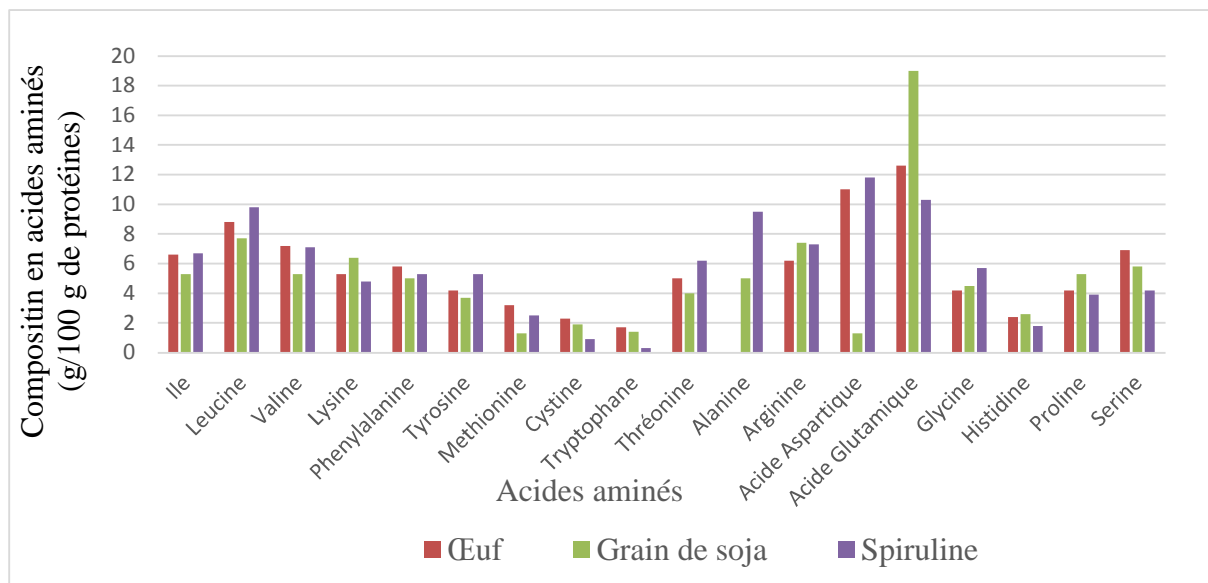


Figure 4. Profil en acides aminés de la spiruline par rapport à l'œuf et au grain de soja.

Source : (Becker, 2007)

La comparaison du profil de la spiruline avec celui de l'œuf montre qu'il y a un excédent de 2% et 11% pour isoleucine et leucine, un déficit de 1%, 9%, 9%, 12% et 40% pour valine, lysine, phénylalanine, méthionine et cystéine respectivement. Pour 3 acides aminés essentiels (Isoleucine, leucine et valine), la spiruline contient respectivement plus de 68%, 48% et 42% que les normes FAO/OMS. Par contre, pour 4 acides aminés essentiels à savoir lysine, phénylalanine, méthionine et cystéine, la spiruline accuse un déficit de 13%, 12%, 29% et 10% respectivement par rapport à la teneur la plus élevée entre l'œuf et le grain de soja. À part un déficit un peu élevé en méthionine (29%), le reste du profil montre un excédent ou un léger déficit en acides aminés (Becker, 2007).

Aussi, si l'on se base sur l'ANC (Apport Nutritionnel Conseillé), le profil en acides aminés de la spiruline lui permet une contribution importante dans l'ANC. Cette contribution varie de 12% pour la lysine à 38% pour la thréonine (Mišurcová et al., 2014).

I.2.3.2. Les acides gras insaturés et polyinsaturés.

Les poissons sont une excellente source d'acides gras polyinsaturés (Omega-3 et Omega-6). Cependant, leur consommation reste limitée à cause de l'odeur, le goût et la sensibilité à l'oxydation (**Spolaore et al.**, 2006).

La composition lipidique de la spiruline se caractérise, d'une part par un bon équilibre acides gras saturés et insaturés, et d'autres parts, la présence d'acides gras polyinsaturés dits « essentiels » ou AGE (**Hudson et Karis**, 1974). Ainsi. La poudre de spiruline contient de 1,5% à 12% de lipides avec des proportions élevées d'acides gras insaturés et une prédominance de l'acide linoléique (**Reed et al.**, 1985).

Par ailleurs, il est important de noter que la spiruline contient un autre acide gras essentiel qui est rarement disponible dans d'autres aliments : l'acide gamma linoléique qui, vu son rôle d'intermédiaire pour la synthèse d'acide arachidonique à partir de l'acide linoléique, se trouve à de faibles teneurs (**Sajilata et al.**, 2008). Il est disponible dans le lait de vache (0,35% à 1%) et le lait maternel (0,1 %) (**Gunstone**, 2003). Dans le monde végétal, on ne le retrouve que dans les graines oléagineuses de primevère (7% à 10 %), de bourrache et (18% à 26%) et de groseilles (15% à 20%)(**Hirano et al.**, 1990). Bien que dépendant des variations du milieu de culture : température, intensité de la lumière et disponibilité de l'azote, et avec un taux de 0.986 %, la spiruline peut être considérée comme l'une des meilleures sources connues d'acide gamma-linoléique après le lait humain et quelques huiles végétales peu disponibles et trop chères (**Falquet et Urni**, 2006).

I.2.3.3. Les glucides.

Présent dans la spiruline entre 18 à 20%, leur rôle est énergétique (soit 4 Kcal /g). Les glucides de la spiruline sont en majorité des polysaccharides. Les polysaccharides sont des structures glucidiques polymériques formées de structures répétées liées par des glucosides (**Kurd et Samavati**, 2015). Selon leur structure, les polysaccharides peuvent avoir des fonctions distinctes de celles des monosaccharides qui les composent (**Chaiklahan et al.**, 2013).

Bien que ne présentant pas un fort apport énergétique, cette composition en glucides de la spiruline est un avantage. En effet, les polysaccharides qui composent la spiruline offrent une énergie rapide sans fatiguer le pancréas et avec une perte minimale en insuline (**Sguera**, 2008).

I.2.3.4. Les vitamines.

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique, indispensables à l'organisme qui est incapable de les synthétiser (du moins en quantité suffisante) essentielles à la croissance et au maintien de la vie (**Schlienger**, 2016). Le Tableau 2 regroupe la composition en vitamines de la spiruline en comparaison avec l'Apport Nutritionnel Conseillé (ANC). En plus de contenir 11 vitamines sur les 13 connues, la spiruline est très riche en vitamine B12, elle est deux à six fois plus riche que le de bœuf (**Sharma et al.**, 2011). Aussi, avec un apport journalier de 20 g de spiruline, on peut couvrir la totalité des besoins de l'organisme en vitamine B12, 70% en vitamine B1, 50% en vitamine B2 et 12% en vitamine B3. Le bêta-carotène, qui parmi le large éventail de caroténoïdes, détient la pole position en tant que précurseur de la vitamine A. , la spiruline peut contenir jusqu'à 1,4 mg/g de bêta-carotène, soit 10 fois plus que la carotte par unité de masse (**Belay et al.**, 1993).

Tableau 2. Composition vitaminique de la spiruline par rapport à l'Apport Nutritionnel Conseillé (ANC).

Vitamines	mg/ 1g piruline	mg/5 g de spiruline	ANC (mg)
Vitamine A	1.4	7	0,8
Vitamine E	0.1	0.5	12
Vitamine B1	0.035	0.18	1.3
Vitamine B2	0.04	0.2	1.6
Vitamine B3	0.014	0.07	14
Vitamine B6	0.01	0.05	1,8
Vitamine B8	0.00005	0.0025	0.15
Vitamine B9	0.0001	0.0005	0.33
Vitamine B12	0.0032	0.02	0.0003
Vitamine K	0.002	0.35	0,005

Sources : ANC : (**Martin**, 2001).

Composition vitaminique de la spiruline : (**Falquet et Urni**, 2006).

I.2.3.5 Les minéraux.

Le Tableau 3 montre la disponibilité des minéraux dans un échantillon de 10 g de poudre sèche de spiruline par rapport à l'ANC.

Sur les 10 minéraux recommandés, la spiruline en contient huit avec un taux de couverture d'ANC assez faible pour la plupart des minéraux. Néanmoins, le taux de couverture pour le fer est très intéressant (62%).

I.2.3.6. Les oligoéléments.

L'une des plus importantes qualités nutritionnelles de la spiruline est la disponibilité de l'iode, élément très recherché vu sa rareté. Ainsi, pour un apport nutritionnel conseillé de 150g/jour, une prise de 3g par jour de spiruline peut couvrir les besoins nutritionnels d'un adulte de 70kg (Capelli et Cysewski, 2010).

Tableau 3. Taux de couverture de l'ANC en minéraux par 10 g de spiruline.

Minéraux	ANC (mg)	Taux/10 g spiruline (mg)	Taux de couverture (%)
Potassium	2000	166	8
Chlorures	800	-	-
Calcium	800	46.8	6
Phosphore	700	96.1	14
Fer	14	8.74	62
Magnésium	370	31.9	9
Zinc	10	0.145	1
Cuivre	1	0.047	5
Manganèse	2	0.326	16
Fluorures	3.5	-	-

Sources :

ANC : (Schlienger, 2014).

Taux de minéraux dans 10 g de poudre de spiruline : (Tang et Suter, 2011).

En définitive, l'étude de la composition de la spiruline a permis de démontrer sa richesse nutritionnelle. La présence d'un nombre aussi important de nutriments dans un seul organisme donne à ce dernier une valeur unique. Ainsi, la conférence mondiale de l'alimentation qualifie la spiruline comme meilleur aliment pour le futur. Pour l'Organisation Mondiale de la Santé, la spiruline est le meilleur aliment pour la santé. L'administration américaine pour la santé (FDA) la considère comme la meilleure source de protéines (Soni *et al.*, 2017).

I.2.4. La valeur sensorielle.

Le choix de l'aliment se fait non seulement sur la base de ses propriétés nutritionnelles, à partir du moment où la disponibilité alimentaire est la règle, mais aussi celles de ses propriétés sensorielles (**Hyardin**, 2008).

À l'aliment, on attribue une fonction « plaisir » liée, entre autres, à la satisfaction des sens olfactifs : il doit être beau à la vue, bon au goût, avoir une odeur et une palatabilité caractéristiques et estimées du consommateur (**Hyardin et al.**, 2007). En mangeant un aliment, nous percevons une gamme complète de différentes caractéristiques liées à l'apparence, l'odeur et la texture de cet aliment (**Kilcast**, 2013).

I.2.4.1. La vue.

La vue influe sur notre choix par l'influence de l'aspect esthétique de l'aliment, elle donne déjà une première impression sur la qualité de l'aliment bien avant l'impression des autres sens (**Kilcast**, 2013). La poudre de spiruline, de couleur verte, n'a rien d'appétissant et constitue un obstacle majeur dans l'acceptabilité des aliments enrichis en poudre de spiruline (**Chacón-Lee et González-Mariño**, 2010). Ainsi, les tests gustatifs ont prouvé que les consommateurs n'acceptent la poudre de spiruline si seulement elle est dissimulée dans un aliment vert comme les nouilles, les épinards et la crème glacée à la menthe (**Vanthoor-Koopmans et al.**, 2013).

I.2.4.2. Le toucher.

Par sa texture, un aliment peut influencer notre choix. La texture est perçue au toucher avec la main et au premier contact avec la langue (**Barrett et al.**, 2010). La poudre de spiruline ressemble, par sa texture, aux herbes de Provence, mais sans leur odeur caractéristique. Par contre, la texture de la spiruline mouillée prend la forme d'une bouillie verte non appétissante (**Sguera**, 2008). De son côté, **Chacón-Lee González-Mariño** (2010) a mis en avant la consistance poudreuse de la spiruline comme facteur obstruant sa consommation directe et incorporation dans les aliments.

I.2.4.3. Le goût.

Le goût est défini par la réponse de la langue aux volatiles et solubles aliments (**Kilcast**, 2013). Il est essentiel à la santé vu son influence sur l'appréciation sur les aliments et les boissons. Par le biais de substances chimiques activées dans la bouche, l'information est transmise et interprétée dans le cerveau et l'aliment peut être accepté ou rejeté (**Marcus**, 2019) . Les tests gustatifs ont montré que la spiruline a un goût fade ,qui rappelle le goût du poisson, n'ayant pas d'attrance vis-à-vis du consommateur. **Chacón-Lee González-Mariño** (2010) a noté l'influence négative du gout poisson de la spiruline sur son acceptabilité. En conséquence, pour pouvoir être consommée, la poudre de spiruline doit être mélangée à un jus de fruits afin de masquer son goût (**Henrikson**, 2010) .

I.2.4.4. L'odeur.

L'odeur est un sens complexe détecté à travers des produits volatils aussi bien par la cavité nasale directement ou par la bouche par la piste rétro nasale (**Kilcast**, 2013). A l'instar du goût, elle est considérée comme un sens chimique puisqu'elle répond par des récepteurs dans la cavité nasale (**Bourne**, 2002). A l'instar des autres sens, la spiruline a montré une faible acceptabilité. Par son odeur spécifique qui rappelle l'algue ou le champignon, la poudre de spiruline n'est pas du goût de tous (**Falquet et Urni**, 2006). Cette odeur qui rappelle aussi celle du poisson à aussi constitué un obstacle dans l'incorporation de la poudre de spiruline dans les aliments (**Chacón-Lee et González-Mariño**, 2010)

Pour l'étude de la valeur sensorielle de la spiruline, la plupart des études citées ont été effectuées en Europe. En conséquence, les résultats concernent le consommateur européen. Il en est de même pour l'Algérie ou le consommateur a montré une faible acceptabilité de la poudre de spiruline à cause de l'odeur, du goût et de l'apparence. En effet, dans un mélange à base de poudre de spiruline et de poudre de datte, sur les sept formules proposées, c'est la formule qui ne contient pas de poudre de spiruline qui a présenté la meilleure acceptabilité (**Benahmed Djilali et al.**, 2011).

En conséquence, la valeur sensorielle de la spiruline est un contre argument qui obstrue sa facile acceptabilité par le consommateur.

I.2.5. La valeur fonctionnelle.

Un aliment fonctionnel exerce un effet sur la fonction dans un sens favorable à la santé, c'est la définition adoptée par le FUFOS (Functional food science in Europe) (**Martin**, 2008).

Plusieurs auteurs se sont intéressés aux qualités fonctionnelles de la spiruline: antiviral, antibactérienne, métallo protectrice, antioxydante et immunostimulante (**Hoseini et al.**, 2013). Ces nombreuses fonctions reflètent la richesse de la spiruline, car, la fonctionnalité d'un aliment, est souvent une molécule spécifique comme allicine de l'ail ou pro anthocyanes pour les canneberges (**Hyardin et al.**, 2009). Le Tableau 4 donne un récapitulatif des molécules fonctionnelles de la spiruline et leurs effets sur l'organisme (**Khan et al.**, 2005).

En conséquence, la spiruline contiendrait au moins sept molécules fonctionnelles, dont deux molécules spécifiques à la spiruline.

I.2.5.1 Le calcium Spirulan.

Le calcium Spirulan est un polysaccharide sulfaté chélaté à du calcium. Il est composé en majorité de rhamnose et de fructose et, à des proportions moindres, de ribose, mannose, galactose, xylose, glucose, acide glucuronique et acide galacturonique (**Andrade et al.**, 2018).

Le calcium Spirulan a montré une activité inhibant l'attachement du herpex virus 1 aux kératinocytes et une activité protectrice contre herpex labialis (**Mader et al.**, 2016). Aussi, le calcium Spirulan a montré des activités biologiques comme une inhibition des invasions tumorales et métastatiques, antithrombines à travers le cofacteur II héparine (**Lee et al.**, 2000).

I.2.5.2 La phycocyanine.

La phycocyanine est un pigment lié aux protéines, soluble dans l'eau (**Vo et al.**, 2015). Avec un taux de 14%, la phycocyanine est le plus important pigment de la spiruline, c'est un complexe protéiné appelle aussi phycobiliprotéine. La phycocyanine a une forte action inhibitrice du NADPH oxydase. De ce fait, la phycocyanine peut prévenir les maladies dues à une suractivité du NADPH oxydase : maladies cardiovasculaires, syndromes métaboliques, complications du diabète, maladie de Parkinsons, maladie d'Alzheimer, arthrites, réactions allergiques et cancer (**Sotiroudis et Sotiroudis**, 2013). Il sert aussi de réactif fluorescent dans les instruments de diagnostic clinique ainsi qu'en immunologie. Il possède des propriétés

antioxydantes, anti-inflammatoires, hépatoprotectrices et anti-radicalaire significatives (İlter *et al.*, 2018).

Vu sa composition nutritionnelle riche en protéines, lipides, vitamines et glucides, la spiruline remplit les conditions nécessaires à un aliment. De plus, avec ses nombreuses activités préventives : anti cancer, anti inflammatoire en particulier, la spiruline peut être qualifiée d'aliment fonctionnel. Quant à l'aspect sensoriel, vu l'odeur qui ressemble à celle de l'algue ou champignon, le goût poisson et une couleur verte non appétissante, la spiruline ne remplit pas les qualités sensorielles d'un aliment. L'aliment fonctionnel reste avant tout un aliment, il doit garder ses qualités organoleptiques pour rester consommé (Pascal *et al.*, 2006).

Tableau 4. Récapitulatif des molécules fonctionnelles de la spiruline.

Spiruline	Calcium Spirulan	Immunostimulant Anticancer Antiviral Induction d'hématopoïèses
	Sulpholipides	Antiviral
	B-Carotène	Anticancer Source de vitamine A Antioxydant
	Cyanvinine-N	Antiviral
	Acide gamma-Linoléique	Précurseur de prostaglandine Artrites, maladies cardiaques Obésité
	Vitamine E	Anticancer Antioxydant
	Phycocyanine	Réduction de toxicité Immunostimulant Induction d'hématopoïèses Antiviral

Source Khan et al, 2005

Un obstacle qu'il sera nécessaire de surmonter pour une exploitation de la riche composition nutritionnelle et des nombreuses propriétés fonctionnelles de la spiruline.

I.2.6 La spiruline dans l'industrie agroalimentaire.

Sur le marché, on trouve beaucoup de produits enrichis avec la spiruline : pâtes, biscuits, crèmes glacées, bonbons, nouilles, boissons (**Mobin et al.**, 2019) tirant profit de la riche composition nutritionnelle de la spiruline qui contient à la fois des protéines, des sucres, des lipides et des caroténoïdes (**Molino et al.**, 2018). Certaines études ont mentionné que le goût, la texture, la couleur et l'odeur de la spiruline constituent un obstacle à leur consommation (**García et al.**, 2017). Des études assez anciennes avaient déjà suggéré de « dissimiler » la spiruline dans des produits de couleur verte (épinards, nouilles, crèmes glacées à la menthe) afin de masquer la couleur verte et l'odeur de poisson (**Alsenani et al.**, 2015).

Cependant en Chine, où la consommation des algues est plus ancienne, les produits disponibles sur le marché, en plus des capsules, sont des produits agroalimentaires où la spiruline a été incorporée. La production de la spiruline en Chine est estimée à 9600 T/année, d'une valeur marchande de 680 millions USD avec une croissance de 10% par année (**Chen et al.**, 2016). Les produits où la spiruline est incorporée sont des nouilles, pain, biscuits, thé et diverses boissons (**Liang et al.**, 2004). Il est à noter qu'en aucun des cas, le goût ou l'odeur de la spiruline n'ont constitué un obstacle à la commercialisation des produits. En effet, le consommateur chinois serait plus habitué à la consommation des algues et, en conséquence, a facilement accepté les produits où la spiruline est incorporée sans pour autant utiliser un masquant de goût ou d'odeur. En conséquence, la Chine est devenue le premier producteur mondial de spiruline et d'autres microalgues avec 90% de cette production est destinée à l'alimentation humaine sous forme de nutraceutiques (**Chen et al.**, 2016).

En Afrique, l'utilisation de la spiruline se limite aux programmes de lutte contre la malnutrition et contre le HIV. La richesse nutritionnelle et les qualités thérapeutiques de la spiruline et la possibilité de sa culture locale ont motivé ce choix.

Dans une étude menée en République Démocratique du Congo, une prise de 10 g de spiruline par jour a amélioré le statut nutritionnel d'enfants souffrant de malnutrition (**Matondo et al.**, 2016). Une autre étude menée au Burkina Faso a indiqué qu'un mélange de spiruline avec un plat local a réhabilité des enfants mal nourris mieux qu'une prise de protéines et d'énergie (**Simpore et al.**, 2006). Au Cameroun, combiné à un régime équilibré pendant 6 mois, la

spiruline a retardé l'exposition aux anomalies lipidiques des patients infectés par le VIH (**Ngo-Matip *et al.*, 2014**).

En Europe, la spiruline est utilisée comme un complément alimentaire, seul ou en association avec d'autres algues ou extraits de plantes. Elle est considérée comme une bonne source de nutriments (**Nicoletti, 2016**). Aussi, la spiruline est utilisée à travers l'extraction de certaines molécules comme les caroténoïdes, la phycocyanine et l'acide gamma linoléique incorporées dans des compléments alimentaires (**García *et al.*, 2017**).

En Algérie, la spiruline a fait l'objet d'études pour son incorporation. Une étude a concerné l'incorporation de la spiruline dans le couscous, un plat traditionnel largement consommé en Algérie. De plus, sa cuisson à la vapeur conserve toutes les qualités nutritionnelles de la spiruline. Incorporée fraîche, aucune réserve n'a été émise concernant un goût ou une odeur pouvant influencer le couscous à la spiruline (**Doumandji *et al.*, 2012**). Une autre étude dont l'objet est la fabrication de gélules avec un mélange de poudre de spiruline, poudre de dattes, l'écorce d'orange et jus d'orange lyophilisé, pour, d'un côté, masquer le goût de la spiruline et, de l'autre côté, augmenter l'apport énergétique des gélules. Une formule avec 10% de spiruline, 80% de poudre de dattes, 5% d'écorce d'orange et 5% de jus d'orange lyophilisés a reçu l'appréciation des consommateurs (**Benahmed Djilali *et al.*, 2011**).

Ces deux études ont eu recours à deux différentes méthodes afin d'augmenter l'acceptabilité de la spiruline, à savoir, son incorporation dans un plat traditionnel largement consommé et son introduction dans une formule avec divers ingrédients. En conséquence, les auteurs ont noté une augmentation de l'acceptabilité de la spiruline. Par contre, d'autres études ont recours à l'extraction des protéines dans le but d'augmenter la teneur en protéines de l'aliment ciblé et, aussi, augmenter ses qualités grâce aux propriétés fonctionnelles des protéines. En effet, certains aliments riches en protéines contiennent aussi des produits pouvant diminuer la digestibilité et la biodisponibilité de certains nutriments (**Demirhan et Özbek, 2013**). On peut citer l'exemple de l'acide phytique contenu dans le soja qui réduit la digestibilité et la biodisponibilité des minéraux (**Lai *et al.*, 2013**).

Dans les études relatives à l'extraction des protéines, les auteurs expliquent l'intérêt de cette démarche par une réponse à la demande croissante en protéines dans les pays en développement (**Yuliana *et al.*, 2014**). D'un autre côté, les protéines jouent un rôle important dans les propriétés fonctionnelles qui améliorent l'acceptabilité des produits par le consommateur, ces propriétés

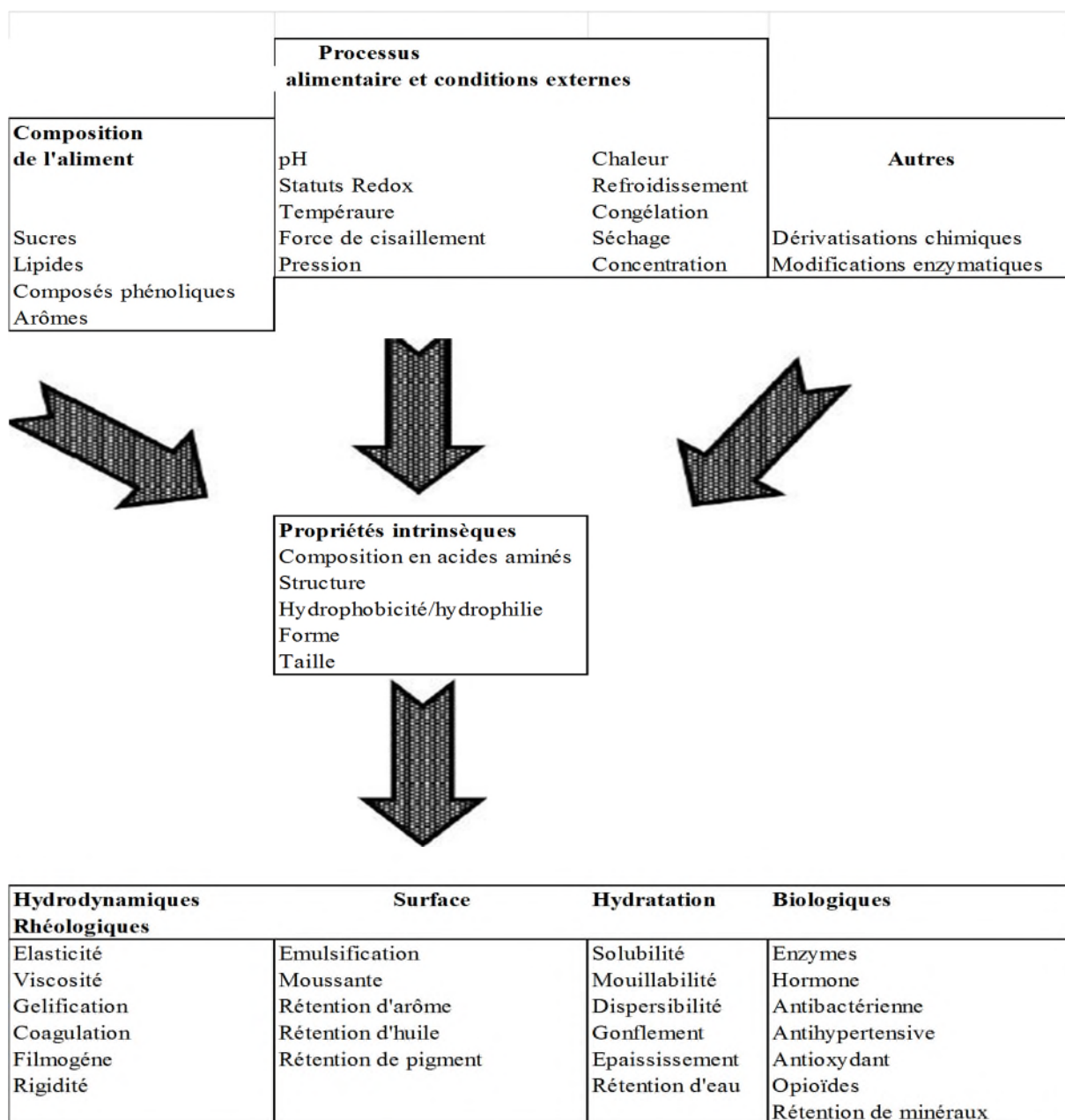
font des protéines alimentaires des ingrédients polyvalents et utiles pour le développement et la formulation (Aryee *et al.*, 2018).

Au préalable de l'étude de l'extraction des protéines à partir de la poudre de spiruline, il est nécessaire de s'assurer de la stabilité de la poudre de spiruline pendant le stockage et le processus. La spiruline, à l'instar des tissus végétaux, est composée de biopolymères dont la formation implique une participation active de l'eau (Sidorenko, 2014). Le tissu végétal est poreux, l'eau peut y circuler et initier des réactions chimiques qui peuvent altérer la qualité de la poudre de spiruline. Pour cela, l'étude des isothermes de sorption fournit les informations relatives au comportement de la poudre de spiruline pendant le stockage et le processus.

I.2.7. Les propriétés fonctionnelles des protéines.

Ce sont des propriétés physico-chimiques qui influencent le comportement des protéines dans un aliment pendant le processus, le stockage, la cuisson et la consommation (Kinsella et Melachouris, 1976). Ces propriétés, dues à la structure hétérogène des protéines et leur interaction avec d'autres ingrédients, contribuent à la qualité sensorielle des aliments (Zayas, 2012).

Les propriétés fonctionnelles sont, tout d'abord, dues aux propriétés intrinsèques des acides aminés constituant les protéines. Elles sont aussi influencées par la composition de l'aliment (eau, sel, constituants de l'arôme). Pendant le processus de fabrication, le chauffage, la congélation et le pH influencent aussi les propriétés fonctionnelles (Li-Chan et Lacroix, 2018). La Figure 5 nous donne un aperçu sur l'ensemble des propriétés fonctionnelles ainsi que les facteurs les influençant.



Source : (Li-Chan et Lacroix, 2018)

Figure 5. Les propriétés fonctionnelles des protéines et les facteurs les influençant

La fonctionnalité des protéines est liée à un rôle structurel dans l'aliment. Il s'agit de l'aspect qualitatif de l'aliment comme l'odeur ou le goût et, aussi, à fournir à l'aliment une qualité désirable avec un impact maximal sur la nutrition et la santé (Foegeding et Davis, 2011). Le Tableau 5 résume les propriétés fonctionnelles des protéines, leur mécanisme d'action et leur application en industrie agroalimentaire.

Tableau 5. Propriétés fonctionnelles des protéines : description, mécanisme d'action et application.

Propriété Fonctionnelle.	Description	Mécanisme principal	Application
Solubilité	Capacité de dissolution dans un solvant.	Hydrophobicité.	Boissons
Rétention d'eau	Interaction des protéines dans l'eau, rétention d'eau et gonflement.	Liaison hydrogène	Viandes, sauces, cake, panification.
Rétention d'huile	Interaction avec l'arôme, rétention d'huile.	Liaison hydrophobe	Panification, yaourt, produits à base de viandes et poissons.
Gélation	Formation d'un gel.	Formation d'un réseau	Viandes, sauces, pâtes, pain.
Mousse	Absorption des protéines dans une interface, enrobage de l'air.	Adsorption interfaciale, propriété filmogène.	Cake, meringue, mousses, yaourt.
Emulsification	Absorption des protéines dans une interface, enrobage des gouttelettes d'huile.	Adsorption interfaciale, propriété filmogène.	Soupes, vinaigrette.

Source : (Aryee *et al.*, 2018)

L'incorporation de la poudre de spiruline dans les aliments à un impact positif sur les qualités du produit. **Danesi *et al.*** (2010) ont conclu à l'augmentation de la durée de vie du pain de manioc (**Danesi *et al.***, 2010). Dans des pâtes alimentaires, l'incorporation de la poudre de spiruline a amélioré la fermeté, le goût et, d'une manière générale, l'acceptabilité (**Zouari *et al.***, 2011). **Shahbazizadeh *et al.*** (2014) ont constaté une amélioration de la texture des cookies traditionnelle iranienne (**Shahbazizadeh *et al.***, 2014). Une importante amélioration des qualités sensorielles est observée sur les cookies après l'incorporation de 1% de poudre de spiruline (**Onacik-Gür *et al.***, 2017). Pour la pâte à pain, l'incorporation de spiruline a amélioré les qualités sensorielles, à savoir texture, fermeté, volume et moiteur (**Mamat *et al.***, 2018).

Pour utiliser les protéines dans un aliment, la couleur, l'odeur, l'arôme et la texture sont des facteurs déterminants (**Kinsella et Melachouris**, 1976). Parmi les propriétés fonctionnelles des protéines, certains auteurs ont souligné l'importance et l'impact sur les autres propriétés de la capacité de rétention d'eau et d'huile. Ainsi, selon **Zayas** (2012), l'interaction protéines-eau est déterminante sur les propriétés fonctionnelles des protéines dans les aliments : rétention d'eau, gonflement, solubilité, émulsification, viscosité, gélification et synérèse, la rétention d'eau joue un rôle majeur dans la texture de l'aliment (**Zayas**, 2012). Il en est de même pour la capacité de rétention d'huile dont l'interaction avec les protéines et les polysaccharides influence la texture et les autres qualités de l'aliment (**Zayas**, 1997a). La rétention de l'huile dans un aliment influence la texture et les qualités sensorielles de l'aliment (**Haque et al.**, 2016). Enfin, **Tao et al.** (2019) ont conclu que la capacité de rétention d'eau et d'huile sont associées à la texture, la sensation et à la rétention de l'arôme par le produit (**Tao et al.**, 2019).

I.2.7.1. La capacité de rétention d'eau.

La capacité de rétention d'eau se traduit par la capacité de retenir l'eau déjà disponible et ajoutée pendant l'application des forces de pression, de centrifugation ou de chauffage (**Zayas**, 1997b). Ses effets sur l'aliment ont une influence directe sur l'acceptabilité de l'aliment vu qu'elle rehausse l'arôme, améliore la texture et réduit le taux d'humidité (**Aider et Barbana**, 2011). Dans les produits panifiés emballés, la capacité de rétention d'eau aide à la réduction de la perte d'humidité, et devient indispensable au maintien de la fraîcheur du produit (**Kandasamy et al.**, 2012). Cependant, la détermination de la capacité de rétention d'eau de la spiruline n'est pas très documentée. Une étude a concerné la comparaison de la capacité de rétention d'eau de la spiruline, de son isolat par rapport à la poudre et l'isolat de soja (**Devi et Venkataraman**, 1984). Une autre étude a pour objectif de comparer la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec celle des protéines d'œufs (**Nirmala et al.**, 1992). **Bashir et al.** (2016) ont établi une étude comparative entre la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline et de son isolat protéique. Dans cette étude, l'isolat protéique de spiruline a une capacité de rétention d'eau supérieure à celle de la poudre de spiruline, selon les auteurs, à une plus importante présence des acides aminés polaires aux sites primaires de l'interface protéines-eau (**Bashir et al.**, 2016). En définitive, selon ces études, la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline permet une incorporation dans les aliments.

I.2.7.2 La capacité de rétention d'huile.

La capacité des protéines d'interagir avec les lipides est importante dans la formulation et le processus des aliments ou plusieurs propriétés sont directement impliquées comme l'émulsification, piégeage de l'huile et l'absorption de l'arôme (**Kinsella**, 1979). Ces propriétés influencées par cette interaction sont visibles sur les viandes, les sauces, les produits de la panification et la préparation de pâtes (**Zayas**, 2012). Les côtés non polaires des chaînes de molécules de protéines représentent les sites primaires de cette interaction (**Sathe et al.**, 1982). Le même auteur ajoute que la capacité de rétention d'huile des protéines est importante dans les produits frits comme la stabilité pendant le stockage et la rétention de l'arôme (**Sathe**, 2002). Concernant les études sur la capacité de rétention d'huile de la spiruline, elles restent limitées. On peut citer **Devi et Venkataraman** (1984) où la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline est supérieure à celle de la poudre de soja, rendant ainsi l'incorporation de la poudre de spiruline dans les aliments intéressante (**Devi et Venkataraman**, 1984). **Nirmala et al.** (1992) ont aussi étudié la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline qui était inférieure à celle des protéines des œufs (**Nirmala et al.**, 1992). Récemment, **Bashir et al.** (2016) ont constaté que la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline est supérieure à celle de son isolat protéique (**Bashir et al.**, 2016). L'ensemble de ces études permet de conclure que la poudre de spiruline, au vu de sa capacité de rétention d'huile, peut être incorporée dans les aliments.

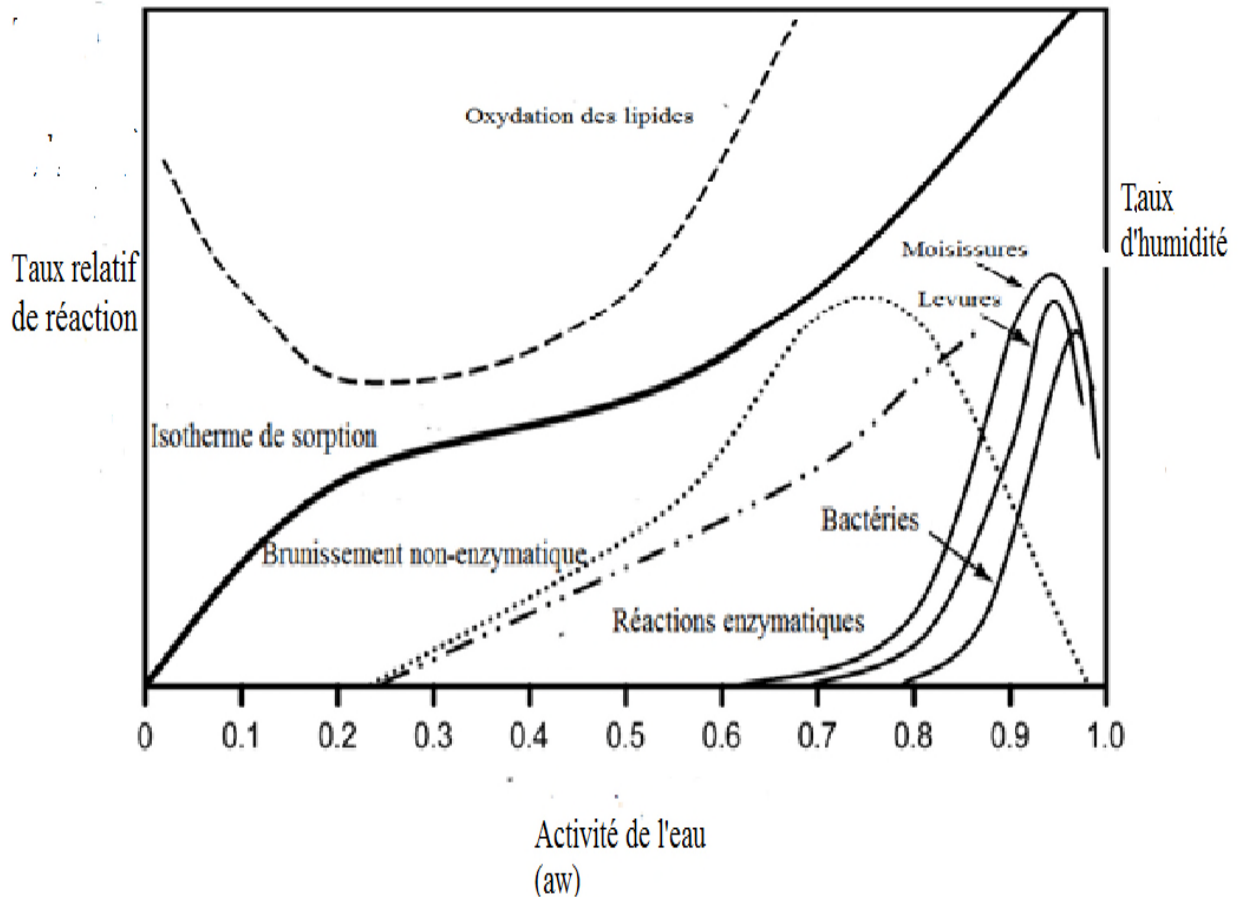
I.2.8. Les isothermes de sorption de la poudre de spiruline.

La qualité et la durée de vie des aliments sous forme de poudre sont fortement liées à la concentration et à la mobilité de l'eau dans leurs structures parce que l'eau exerce une forte influence sur la croissance microbienne, le goût, la digestibilité et la structure physique (**Rocha et al.**, 2014). Donc, l'état de l'eau dans un aliment joue un rôle crucial dans la conservation des aliments, la qualité des aliments conservés dépend de la teneur, de la migration et de la prise d'eau pendant le stockage (**Basu et al.**, 2006). Ce rôle est en majorité dû à la structure de la molécule d'eau : une configuration tétraédrique avec des propriétés diélectriques lui permettant de former des liaisons hydrogène (**Finley et al.**, 2018).

D'un côté, les produits alimentaires d'origine végétale sont constitués de biopolymères et sont d'une structure poreuse qui influence leur capacité d'absorber l'eau à partir de l'environnement

(**Sidorenko**, 2014). Donc, le taux d'humidité joue aussi un rôle fondamental dans la qualité et la texture des aliments (**Vasquez et al.**, 2011). D'un autre côté, l'eau disponible dans un aliment peut être exprimée par l'activité de l'eau (a_w) qui est définie par le ratio de la vapeur d'eau en équilibre à la pression de vapeur de l'eau pure à une même température (**Berk**, 2013). En conséquence, il devient nécessaire d'établir une relation entre l'activité de l'eau et la teneur en eau à l'équilibre pour une maîtrise optimale des conditions de stockage (**Caballero-Cerón et al.**, 2015). Pour cela, les isothermes de sorption sont utilisées pour prévoir la durée de vie des aliments sensibles à l'humidité pendant le stockage. Les isothermes de sorption sont des courbes représentant la relation entre l'activité de l'eau et la teneur en eau à l'équilibre à une température donnée. En conséquence, par les isothermes de sorption à différentes températures, il est possible de déterminer les conditions optimales de stockage et le comportement de la poudre de spiruline pendant le processus des aliments pour éviter des modifications indésirables et augmenter la durée de vie (**Staudt et al.**, 2013). La Figure 6 montre les possibles détériorations que les aliments peuvent connaître pendant le stockage. Nous remarquons que la valeur 0,6 pour l'activité d'eau marque un seuil critique. En effet, en deçà de ce seuil, l'aliment est sujet à l'oxydation des lipides, la réaction de Maillard et les réactions enzymatiques. Au-delà de ce seuil, c'est le début de l'activité des microbes, des levures et des moisissures (**Bell**, 2007).

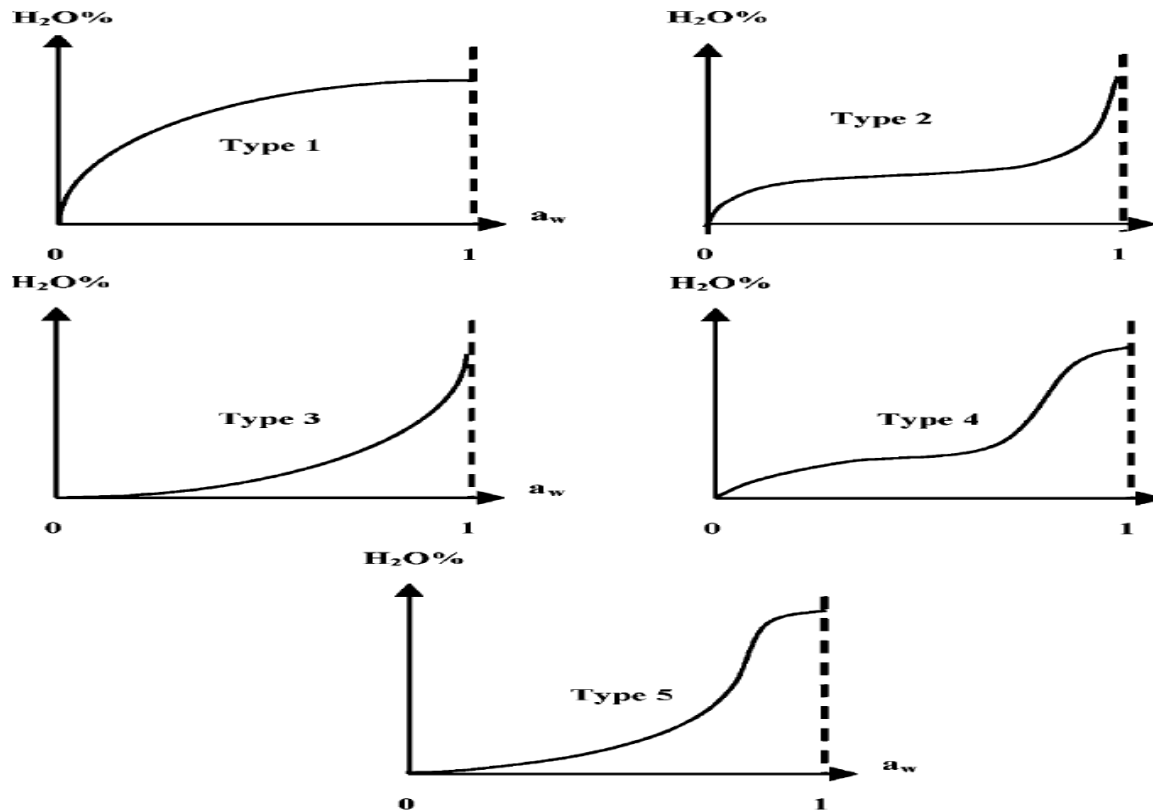
Les isothermes de sorption représentent la relation entre la teneur en eau de l'aliment et la pression de la vapeur d'eau relative de l'atmosphère en équilibre avec l'aliment (**Labuza et Altunakar**, 2007). Donc, cette relation est une représentation graphique de l'équilibre thermodynamique entre la teneur en eau et l'activité de l'eau à une température et une pression donnée. La forme de la courbe des isothermes de sorption dépend de la température, la composition de l'aliment, la pression, et de l'état physique de l'aliment (**Caballero-Cerón et al.**, 2015). On peut donc observer cinq types d'isothermes comme le montre la Figure 7.



Source : (Bell, 2007)

Figure 6. Carte de stabilité des aliments en fonction de l'activité de l'eau.

Le type 1 concerne l'absorption de l'eau par un produit constitué d'une unique monocouche (appelé aussi isotherme de Langmuir). Le type 2 est observé dans le cas de produits solubles, c'est une forme sigmoïdale, avec une tendance asymptotique quand la valeur de l'activité de l'eau est proche de 1. Le type 3 correspond aux produits à forte concentration en sucre. Le type 4 concerne les solides hydrophiles et le type 5 représente l'absorption de l'eau dans la multicouche (Basu *et al.*, 2006; Caballero-Cerón *et al.*, 2015).



Source : (Basu *et al.*, 2006).

Figure 7. Les différents types des isothermes de sorption.

Les produits alimentaires montrent, dans la majorité des cas, une forme de type 2 et 3 ; les produits riches en protéines sont de type 2, dus à leur nature qui augmente la disponibilité des groupes polaires (Labuza et Altunakar, 2007). Cette forme est typique des produits alimentaires où deux flexions sont notées sur la courbe. La première entre une activité d'eau entre 0,2 et 0,4, due à la formation de la multicouche et le remplissage des petits pores. La seconde flexion se situe à des activités de l'eau entre 0,6 et 0,7 résultat du remplissage des grands pores et de la dissolution des solutés (Labuza et Altunakar, 2007)

Dans ce type de courbe (Figure 2, Annexes) nous remarquons trois phases distinctes (Basu *et al.*, 2006; Caballero-Cerón *et al.*, 2015; Basu *et al.*, 2013). La première phase concerne une activité de l'eau entre 0 et 0,1, l'eau est fortement liée, elle comprend l'eau structurale retenue par les groupes hydrophiles de l'aliment (protéines, polysaccharides). Dans cette phase, l'eau n'est pas disponible pour les réactions chimiques. Dans la deuxième phase, entre une activité de l'eau de 0,2 à 0,6, les couches doubles multiples commencent à se former, c'est une région de transition où la condensation capillaire commence à se former. La troisième phase, entre 0,7

et 0,9, c'est la phase de l'eau libre ou faiblement liée aux constituants de l'aliment, la condensation capillaire augmente, ainsi que le gonflement, l'hygroscopicité maximale de la poudre est atteinte.

Plusieurs méthodes sont disponibles pour la mesure des isothermes de sorption : méthode gravimétrique, méthode manométrique et méthode hygrométrique. Cependant, la plus utilisée et recommandée par le projet européen sur les propriétés physiques des aliments (COST 90) qui consiste à utiliser des pots hermétiques remplis de solutions salines à différentes concentrations pour maintenir l'humidité relative de l'air au taux désiré (**Basu et al.**, 2006).

La modélisation des isothermes de sorption peut se faire par plusieurs équations. Dans des études comparatives, l'équation de GAB est recommandée vu qu'elle couvre une activité de l'eau de 0 à 0,9 (**Timmermann et al.**, 2001; **Blahovec et Yanniotis**, 2007; **Furmaniak et al.**, 2009). L'équation de GAB est aussi la plus utilisée vu qu'elle prend en considération l'effet de la température (**Caballero-Cerón et al.**, 2015). Enfin, des spécialistes comme le symposium international sur les propriétés de l'eau (ISOPOX) et le projet européen COST ont recommandé l'utilisation de l'équation GAB (**Staudt et al.**, 2013).

Après l'utilisation de l'équation recommandée pour modéliser l'isotherme de sorption, il reste à l'évaluer par des indices statistiques. L'indice le plus utilisé est coefficient de détermination R^2 , qui reflète la relation linéaire entre deux ensembles de données (**Basu et al.**, 2006; **Caballero-Cerón et al.**, 2015; **Timmermann et al.**, 2001; **Blahovec et Yanniotis**, 2007) Deux autres indices sont aussi utilisés, il s'agit de la déviation relative moyenne (MRD) et l'erreur quadratique moyenne (RMSE) qui mesurent la déviation entre les valeurs expérimentales et les valeurs prévues (**Caballero-Cerón et al.**, 2015; **Al-Muhtaseb et al.**, 2002).

Une fois évalué, le modèle peut être utilisé pour déterminer la chaleur iso stérique de sorption. C'est une valeur thermodynamique très utile dans le processus de déshydratation. Elle est considérée comme un indice sur les forces d'attraction entre les sites de sorption et la vapeur d'eau (**Al-Muhtaseb et al.**, 2004a). Elle dépend de la teneur en eau de l'aliment, quand la teneur en eau augmente, la chaleur iso stérique de sorption se rapproche de la chaleur de vaporisation de l'eau. Au contraire, à une teneur en eau de moins de 20%, elle est très élevée (**Caballero-Cerón et al.**, 2015). Ceci confirme son intérêt dans le processus de déshydratation afin de

connaître l'énergie nécessaire au processus. La méthode de calcul la plus utilisée est obtenue à partir de l'équation de Clausius-Clayperon (**Chen**, 2006).

Les études sur les isothermes de sorption de la spiruline sont plutôt rares, bien que l'intérêt à leur étude ne soit pas récent. Une étude de la qualité de la poudre de spiruline en stockage a déterminé les conditions optimales de stockage à 27°C. (teneur en eau à 12,8 % correspond à une activité de l'eau de 0,56). Dans ces conditions, l'auteur a noté une bonne stabilité des protéines et des lipides, mais une détérioration de la qualité de la phycocyanine et du bêta-carotène. Il a aussi obtenu une courbe des isothermes de type 2 (**Kumar et al.**, 1995). Dans une autre étude, l'auteur a obtenu un meilleur coefficient de détermination R^2 de 0,98% pour l'équation de GAB et une courbe sigmoïdale de type 2, ainsi qu'une chaleur iso stérique de sorption maximale à une teneur en eau de 10% (**Oliveira et al.**, 2009b). Récemment, une étude à 10°C, 20°C et 30°C a abouti à des courbes de type 2, ainsi qu'une réduction de la surface de l'adsorbant sous l'effet de l'agitation thermique (**Ayachi et al.**, 2019).

I.2.9. L'extraction des protéines.

Les objectifs de l'extraction des protéines à partir de leurs sources sont divers. L'amélioration des propriétés fonctionnelles est constaté pour les protéines de soja (**Liu et al.**, 2007). Pour l'extraction des protéines du son de riz, les qualités nutritionnelles et fonctionnelles, ainsi que pour les qualités hypoallergéniques ont été prouvées (**Adebisi et al.**, 2009). Comme mentionné précédemment, l'élimination d'un élément indésirable constitue aussi l'un des objectifs de l'extraction des protéines, comme pour l'élimination de l'acide phytique, qui diminue la biodisponibilité de certains minéraux, pour les graines de canola (**Schweizer et Segall**, 2010). Par ailleurs, l'extraction des protéines de graines de quinoa a abouti à un ingrédient sans gluten avec un profil complet en acides aminés (**Föste et al.**, 2015).

Pour les microalgues, l'extraction obéit aux mêmes objectifs, à savoir l'élimination d'éléments indésirables à l'instar de la couleur verte due à la chlorophylle dans le cas de *Tetraselmis sp* (**Schwenzfeier et al.**, 2011). Cependant, avec l'intérêt croissant que connaissent les microalgues pour la production des biocarburants, l'extraction des protéines obéit à l'objectif économique de rentabilité. Ainsi, après l'extraction des lipides pour les biocarburants, la valorisation des résidus riches en protéines ,et d'autres nutriments, augmente la rentabilité économique comme le cas de la microalgue *Nannochloropsis* (**Gerde et al.**, 2013). Pour

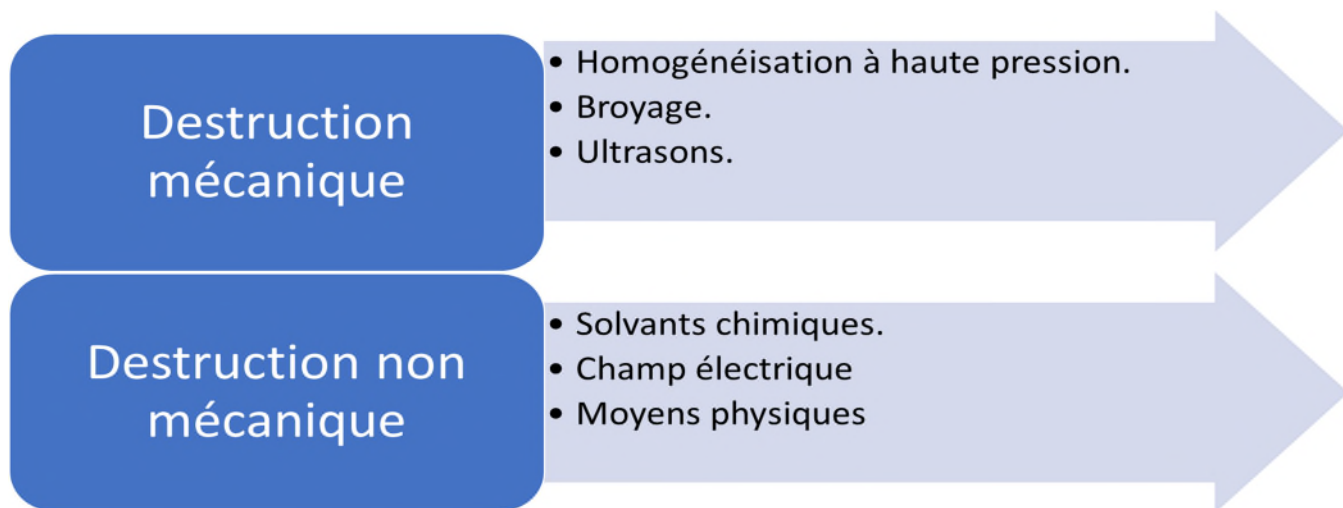
l'extraction des protéines à partir de la spiruline, la documentation n'est pas très riche. Pour **Devi Venkataraman** (1984), l'objectif était d'étudier les propriétés fonctionnelles comparativement à celles du soja (**Devi et Venkataraman**, 1984). Quant à **Parimi et al.** (2015), l'extraction des protéines à partir de la spiruline a pour objectif, d'un côté, de valoriser les résidus et, de l'autre côté, obtenir un biocarburant sans azote (**Parimi et al.**, 2015). Dans le cadre de la recherche de nouvelles sources de protéines pour répondre une demande croissante, l'extraction des protéines répond aussi à cet objectif (**Lupatini et al.**, 2016). Dans le cas de l'étude récente de **Vernès et al.** (2019), l'objectif de l'extraction des protéines est de rentabiliser la production de spiruline, la microalgue la plus produite en biomasse totale, pour une meilleure utilisation à échelle industrielle (**Vernès et al.**, 2019).

Les techniques d'extraction des protéines se basent sur les qualités physico-chimiques des protéines : Forme, poids moléculaire, charge électrique, point isoélectrique, hydrophobicité et interaction biologique (**Österlund et Janson**, 1998; **Grant**, 2016).

Plusieurs étapes sont nécessaires à l'extraction des protéines (**Soto-Sierra et al.**, 2018) :

1. Destruction de la paroi cellulaire afin de faciliter la libération des protéines.
2. Alcalinisation pour hydrater et solubiliser les protéines.
3. Centrifugation pour clarifier et éliminer les débris.
4. Récupération des protéines.
5. Centrifugation pour éliminer l'eau et récupérer les granules de protéines.

Les méthodes conventionnelles utilisées pour la destruction de la paroi cellulaire, par des solvants, ont une influence négative sur les protéines en causant leur dénaturation (**Gerde et al.**, 2012). De ce fait, la recherche de nouvelles méthodes de destruction de la paroi cellulaire a retenu l'intérêt des chercheurs. Différentes techniques sont proposées pour une extraction plus efficace, plus rapide et moins nocive que nous pouvons voir sur la Figure 8. Mais, au préalable, le choix d'une technique d'extraction dépend de la nature de la paroi cellulaire.



Source : (**Chiong et al.**, 2016)

Figure 8. Techniques utilisées dans l'extraction des protéines à partir des microalgues

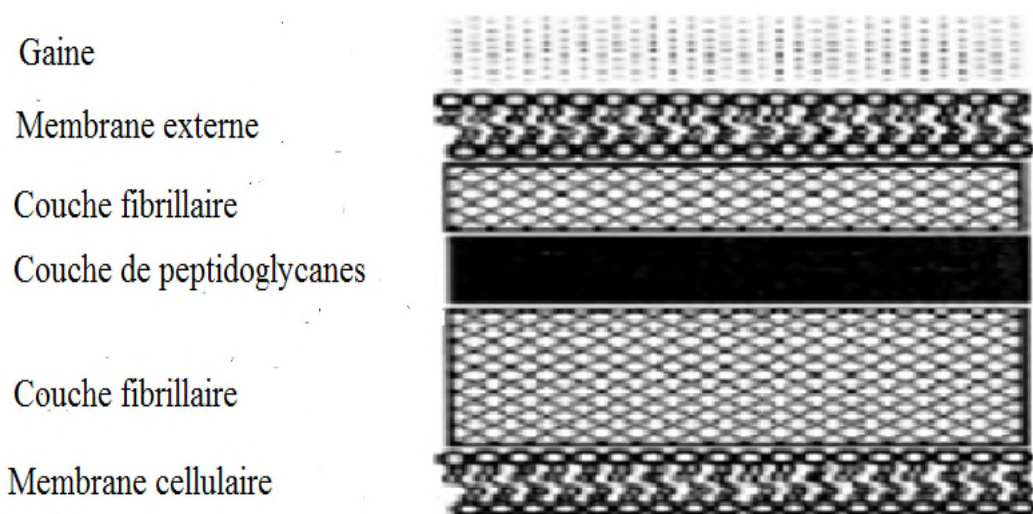
La paroi cellulaire de la spiruline est qualifiée de lisse et facile à digérer (**Wan et al.**, 2016). Elle a aussi été qualifiée de molle et dont la destruction de la fragile paroi cellulaire nécessite une technique atténuée (**Safi et al.**, 2013). En effet, la paroi cellulaire de la spiruline (de type bactérie Gram négatif) est constituée de quatre couches distinctes comme le montre la Figure 9. La couche de peptidoglycane, qui donne une rigidité à la couche, est située entre deux couches fibrillaires tandis que l'enveloppe externe est constituée de polysaccharides (**D'Hondt et al.**, 2017). La Figure 3 en Annexes montre les détails de la composition de cette paroi.

En plus de la nature de la paroi cellulaire, l'application finale du produit doit être prise en considération en évitant l'exposition de la poudre de spiruline à des conditions dures comme la haute pression, la vitesse de cisaillement ou une haute température (**Postma et al.**, 2015). L'examen de l'étude comparative des différentes techniques de destruction de la paroi cellulaire montre que la technique des ultrasons est la plus adaptée au cas de l'extraction des protéines à partir de la poudre de spiruline (**Phong et al.**, 2017).

1.2.9.1. Les ultrasons dans l'extraction des protéines.

D'une manière générale, les ultrasons sont des ondes supérieures à la limite de l'oreille humaine (+20 kHz). Ils consistent en un traitement physique basé sur la cavitation de bulles pour endommager la paroi cellulaire (**Soto-Sierra et al.**, 2018). La cavitation crée une impulsion des

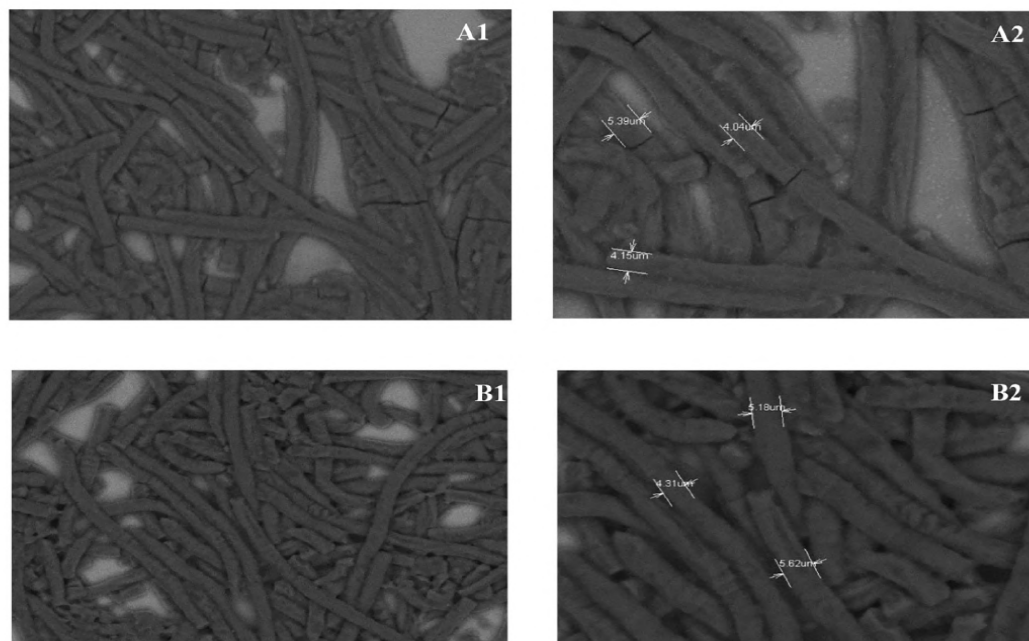
bulles dans le liquide dont les effets physiques sont une vitesse et une pression des ondes de choc qui vont causer une altération de la paroi cellulaire (**Ranjan et al.**, 2010). L'implosion violente des bulles crée des régions microscopiques d'une température et d'une pression élevée provoquent une excitation du liquide et de son contenu qui facilitent la dégradation de la paroi cellulaire et, en conséquence, la libération des protéines (**Bleakley et Hayes**, 2017). C'est une technique simple, économique, à faible consommation d'énergie et écologique (**Nazari et al.**, 2018).



Source : (**D'Hondt et al.**, 2017).

Figure 9 . La paroi cellulaire de la spiruline.

La Figure 10 montre les images d'une microscopie électronique à balayage des échantillons de spiruline soumis à des ultrasons. Nous remarquons que l'utilisation des ultrasons ne modifie pas la structure de la spiruline prouvant qu'il s'agit d'une technique qui n'est pas nocive (**Rodrigues et al.**, 2018). Les auteurs ayant utilisé les ultrasons pour l'extraction des protéines à partir des microalgues ont confirmé leur efficacité. Combinée à différentes doses de solvants, la technique des ultrasons a significativement augmenté le taux d'extraction des protéines à partir de trois espèces de microalgues (**Ferreira et al.**, 2016).



Source : (Vernès *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2018).

Figure 10. Image d'une microscopie électronique à balayage de la spiruline avant exposition aux ultrasons (A1) contrôle x1000 ; (A 2) contrôle X2000 . Après exposition aux ultrasons (B1) X1000; (B2) X 2000.

Il en est de même pour la microalgue *Chlorella vulgaris* dont le taux d'extraction des protéines passe de 47% à 56% ainsi qu'une amélioration de son profil en acides aminés (Janczyk *et al.*, 2005). A différentes fréquences d'ultrasons, le taux d'extraction de différentes microalgues a augmenté. (Keris-Sen *et al.*, 2014). Dans le cas de la spiruline, De Souza *et al.* ont confirmé l'augmentation du taux d'extraction de biomolécules, dont les protéines, avec l'utilisation des ultrasons en moins de temps et dans des conditions moins nocives (de Souza *et al.*, 2018)

Cependant, son inconvénient est la création d'une énergie mécanique dont la conséquence est une température élevée inutile dans la destruction de la paroi cellulaire (Show *et al.*, 2015). En plus, l'énergie élevée causée par les ultrasons, qui par une augmentation de la température, peut endommager les protéines (Morançais *et al.*, 2018). Donc, il devient nécessaire de contrôler la température pendant l'utilisation des ultrasons.

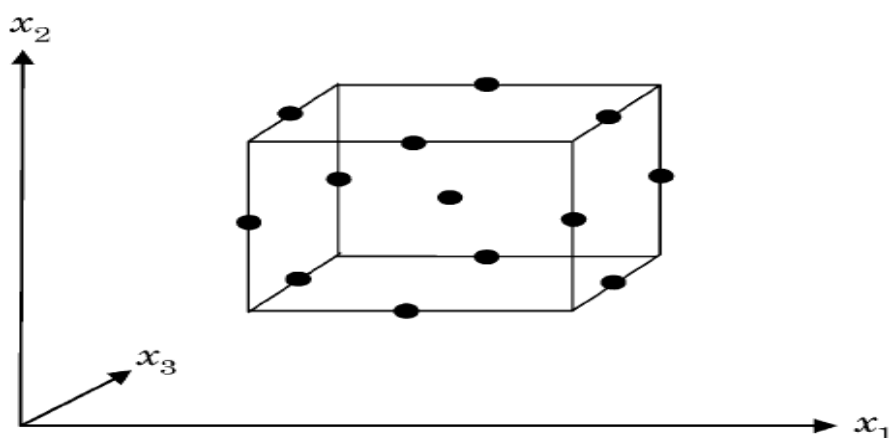
Afin d'atténuer les effets de cet inconvénient, certains auteurs proposent une association avec une autre méthode, comme l'extraction par des solvants, et procéder à une optimisation de cette extraction afin de minimiser la puissance des ultrasons et l'utilisation des solvants pour un résultat maximal (Ferreira *et al.*, 2016).

I.2.9.2. L'optimisation de l'extraction des protéines.

L'optimisation fait référence à l'amélioration de la performance d'un système, d'un processus ou d'un produit afin d'en obtenir le maximum de bénéfices (**Bezerra et al.**, 2008). L'optimisation en chimie analytique a connu essor important en conséquence du développement de l'informatique. Elle permet la réduction du nombre d'expériences, et donc une utilisation moindre de réactifs, l'estimation de la pertinence de l'expérimentation et la signification statistique des effets des facteurs étudiés (**Ferreira et al.**, 2007a). Elle constitue aussi une étape critique pour trouver la valeur ou chaque facteur produit la meilleure réponse (**Candiotti et al.**, 2014).

Plusieurs méthodes sont disponibles pour l'optimisation. Le Central Composite Design, le Box-Benhen Design (BBD) et le Doehlert Design. Le Box-Benhen Design présente certains avantages. Tout d'abord, il ne propose pas des combinaisons où les facteurs sont à leurs niveaux extrêmes et, ainsi, éviter des résultats indésirables (**Bruns et al.**, 2006). Dans le cas d'une optimisation avec trois variables, le Box-Benhen Design est plus efficace avec un nombre d'expériences moindre que le Central Composite Design et le Doehlert Design (**Ferreira et al.**, 2007b).

La Figure 11 montre le schéma du Box-Benhen Design à 3 paramètres où l'on remarque que les points expérimentaux sont situés dans une sphère à équidistance du point central.



Source : (**Bruns et al.**, 2006)

Figure 11. Représentation expérimentale d'un Box-Benhen Design à 3 paramètres

Pour établir un Box-Benhken Design, il est nécessaire de passer par deux étapes . La première est la détermination du nombre d'expériences selon l'équation suivante :

$$N=2k(k-1) + C_0$$

N est le nombre d'expériences, k le nombre de variables et C_0 le nombre de points centraux (Stalikas *et al.*, 2009). La seconde étape est d'ajuster les variables à, uniquement, trois niveaux (-1,0,1) espacés par des intervalles égaux (Bezerra *et al.*, 2008).

Une fois le nombre d'expériences déterminé et les variables ajustées, l'étape suivante consiste à déterminer les variables et leurs interactions qui affectent la réponse. Dans cet objectif, la Méthodologie de Surface de Réponse (MSR) a été utilisée. C'est un outil efficace dans l'optimisation (Das et Dewanjee, 2018). Pour cela quatre étapes sont nécessaires. Dans un premier temps, il s'agit de concevoir une série d'expériences pour des mesures adéquates et fiables de la réponse désirée. En deuxième temps, développer un modèle mathématique du second degré représentant l'expérimentation. Dans la troisième étape, il s'agit de trouver les paramètres expérimentaux optimaux qui produisent la réponse maximale ou minimale. Enfin, représenter les effets directs interactifs des paramètres du processus à travers des graphes 2D et 3D (Raissi et Farsani, 2009).

Après l'établissement de la Méthodologie de Surface de Réponse, une évaluation du modèle est nécessaire à travers un ensemble d'outils statistiques.

I.2.9.2.1. Evaluation du modèle.

L'analyse de la variance (ANOVA) a pour objectif de comparer la variation due au changement induit par la combinaison des niveaux des paramètres avec la variation due aux erreurs inhérentes à la mesure des réponses obtenues (Bezerra *et al.*, 2008). Au premier plan de l'analyse ANOVA, la valeur de la probabilité p qui doit être inférieure à la valeur de α qui est de 0,05, valeur agréée en recherche alimentaire (Nunes *et al.*, 2015). La valeur F est un autre moyen d'évaluer le modèle , c'est un rapport entre la moyenne des carrés du modèle et l'erreur résiduelle, plus la valeur de F est élevée, plus le modèle est significatif (Stalikas *et al.*, 2009). Par ailleurs, par l'utilisation du coefficient de détermination R^2 , nous pouvons vérifier la concordance des valeurs observées avec les valeurs prévues, plus la valeur de R^2 est proche de 1, plus le modèle est fiable. Dans le cas où le nombre d'expériences n'est pas important, la correction se fait par le R^2 ajusté, une différence moins importante confirme la fiabilité du

modèle (Nunes *et al.*, 2015). Enfin, le diagramme de Pareto est l'une des options graphiques les plus utilisées pour montrer la signifiacnce des paramètres et leurs interactions. Ce sont des barres horizontales qui montrent l'importance des facteurs dont l'effet est calculé par le ratio entre la valeur de l'effet et la déviation standard obtenu lors de l'optimisation. Sur le diagramme, on peut voir une ligne perpendiculaire à l'axe des x qui montre le degré de confiance qui, en chimie analytique est de 95% (Ferreira *et al.*, 2017).

Les travaux sur l'optimisation de la spiruline par la Méthodologie de Surface de Réponse sont récents. En effet, un taux de protéines de 60% a été obtenu avec un prétraitement par homogénéisation à haute pression (Parimi *et al.*, 2017). Avec un prétraitement aux ultrasons à 40 kHz, le taux de protéines est de 62% (Hadiyanto et Adetya, 2018). Par ailleurs, avec la Méthodologie de surface de Réponse, l'effet de l'utilisation des ultrasons est confirmé par une augmentation du taux d'extraction (Vernès *et al.*, 2019).

I.2.9.2.2 Evaluation économique de l'extraction des protéines.

La richesse nutritionnelle de la spiruline en particulier n'a pas encore suscité une importante demande malgré des taux de croissance assez élevés. La production mondiale de Spiruline est de 12000 tonnes par année avec un taux de croissance moyen de 5,2% (Koyande *et al.*, 2019). Les coûts de production semblent constituer un obstacle à l'extension de la consommation de la spiruline. En effet, le prix des protéines de spiruline se situe autour de 34\$/kg, prix bien élevé par rapport au prix des protéines de soja autour de 5\$/kg (Soto-Sierra *et al.*, 2018). Afin de diminuer les coûts de production de la spiruline, les auteurs ont étudié plusieurs possibilités allant de l'amont comme les systèmes et les facteurs de production ainsi qu'en aval à l'instar des méthodes séchage et d'extraction.

Par ailleurs, la demande en microalgues reste importante et pourrait entraîner une augmentation de la production. Par exemple, la demande du marché européen en huile de soja qui est de 7,5 millions de tonnes nécessite la production de 10 millions de tonnes de microalgues. Pour les biocarburants, la production nécessaire pour couvrir la demande du marché européen évaluée à 6,8 millions de tonnes est de 17 millions de tonnes de microalgues (Vanthoor-Koopmans *et al.*, 2013). En conséquence, une augmentation de la production entraîne d'importantes économies d'échelle. En effet, le coût de production diminue significativement quand la surface de production augmente. Il passe de 9\$ par kg de biomasse pour 1ha à 4 \$/kg sur une surface de 100 ha (Wijffels *et al.*, 2010).

I.2.9.2.2.1 Réduction des coûts de production

Le milieu de culture est le deuxième facteur influençant le coût de production, il représente 15 à 25% du coût total (**Madkour et al.**, 2012). Le milieu de culture le plus utilisé est le milieu Zarrouk, son coût est estimé à 0,08 USD par litre. Ce coût jugé élevé a poussé les chercheurs vers sa réduction. La production de la spiruline avec un milieu de culture recyclé et enrichi avec 50% de nitrates, ainsi qu'une utilisation cyclique de la lumière ont conduit à une augmentation de la production de 8% avec une réduction du coût de production (**Ho et al.**, 2018). **Delrue et al.** (2017) ont procédé à une dilution du milieu de culture de 20% sans influencer ni sur le taux de croissance ni sur la composition nutritionnelle de la spiruline sur un cycle de 28 jours, la production est restée stable avec une récolte de 15g /m²/j. D'une autre côté, **Jung et al.** (2015) ont remplacé le bicarbonate de sodium du milieu Zarrouk par la soude caustique (NaOH) qui, en diminuant le pH provoque une conversion gaz carbonique dissout en composé organique assimilable par la spiruline. En conséquence, le coût de préparation du milieu Zarrouk a été réduit de 34,3%. Aussi, l'utilisation d'engrais, moins coûteux, a réduit le coût du milieu de culture de cinq fois dans l'étude de **Raouf et al.** (2006) où aucune réduction de production et de nutriments n'a été constatée.

Dans un autre contexte, afin de diminuer les coûts, **Zhai et al.** (2017) ont étudié la possibilité d'utiliser les eaux usées. Ils ont procédé par optimisation des 3 paramètres : le pH, l'intensité de la lumière et le temps d'illumination. Bien que la densité obtenue a diminué de 22% et le teneur en protéines de 15%, il n'en demeure pas moins que les économies réalisées en nutriments comblent largement ces déficits. En plus, les phosphates et les nitrates contenus dans les eaux usées ont été absorbés à, respectivement, 94,13 % et 92,58%.

I.2.9.2.2.2 Cycle de croissance

La croissance de la spiruline se fait en deux phases. La première phase est exponentielle où la souche dirige son potentiel vers la croissance et la reproduction cellulaire, c'est dans cette phase où les protéines sont produites. La deuxième phase est stationnaire, la cellule produit des lipides, des polysaccharides. Dans l'étude **Chentir et al.** (2018), la composition de la biomasse a été efficacement modulée pour la production de métabolites désirées. L'interaction entre plusieurs paramètres, à savoir intensité de la lumière, concentration en NaCl, NaNO₃ et K₂HPO₄, a conduit après 3 jours à une composition de la biomasse similaire à celle obtenue

après 10 jours. Cette étude montre qu'en plus du gain en productivité, il est possible de contrôler la composition de la spiruline en fonction de la demande du marché tout en répondant rapidement à cette demande.

I.2.9.2.2.3 Méthodes de récolte

Centrifugation

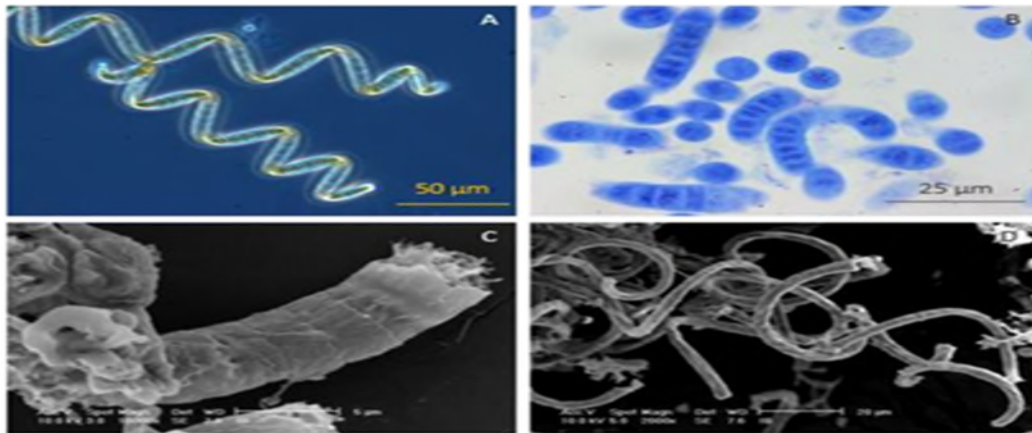
Bien que rapide et efficace dans le cas de la préservation de la qualité des nutriments à haute valeur commerciale, cette méthode est très coûteuse (**Soto-Sierra et al.**, 2018). Son coût peut représenter jusqu'à 25% du coût total de la spiruline. Néanmoins, ce coût peut être réduit à 7% dans le cas d'une préconcentration de la biomasse (**González-Fernández et Ballesteros**, 2013).

Floculation

Cette méthode est basée sur l'interaction entre le floculant et la surface de la cellule de la spiruline (**Brennan et Owende**, 2010). Elle se fait par divers types de floculants : polymères cationiques, floculants inorganiques et biopolymères. L'inconvénient de cette méthode est les résidus des floculants qui altèrent la qualité du produit fini et réduisent considérablement sa valeur commerciale. Cependant, il est possible d'utiliser des floculants de grade alimentaire ou recyclables, mais, dans ce cas, des coûts supplémentaires peuvent être engendrés (**González-Fernández et Ballesteros**, 2013)

Filtration

Cette méthode peut être utilisée dans le cas où la cellule de la microalgue dépasse 70µm, c'est qui le cas de la spiruline dont la forme filamenteuse (Figure 12) facilite l'utilisation de cette méthode qui en plus peut récupérer 98% de la biomasse (**Costa et al.**, 2019). Elle est peu consommatrice d'énergie, elle consiste à récolter la biomasse par concentration. La disponibilité d'une grande variété de filtres et de membranes rend cette méthode l'une des plus économiques (**Chandra et al.**, 2019). En plus, la récolte est importante puisqu'elle peut passer de 0,5g/l à 150g/l (**González-Fernández et Ballesteros**, 2013).



Source : (Vernès *et al.*, 2019)

A et B, spiruline fraîche, au microscope optique. C et D, spiruline sèche, au microscope électronique à balayage.

Figure 12. Observation microscopique des filaments de spiruline

I.2.9.2.2.3 Augmentation de la rentabilité

Certains auteurs ont proposé l'exploitation commerciale des autres composants de la spiruline à l'instar des lipides, des polysaccharides et des pigments (Bleakley et Hayes, 2017). Cette approche est justifiée par la valeur commerciale des protéines de la spiruline qui représentent 30% de la valeur totale (Wijffels *et al.*, 2010). Dans ce sens, l'exploitation des lipides à partir des microalgues pour la production de biocarburant concorde avec cette solution. En effet, un prix de revient entre 4\$/kg et 7\$/kg est acceptable pour la production de nutriments, mais n'est pas rentable pour l'exploitation unique des biocarburants (Norsker *et al.*, 2011). La spiruline contient des produits dont la valeur commerciale dépasse 100Eur / kg comme le bêta-carotène, la phycocyanine et les acides gras non saturés (Bastiaens *et al.*, 2017). La phycocyanine peut aussi dépasser 200 EUR/kg au vu de ses nombreuses utilisations surtout en diagnostique médicale (Brennan et Owende, 2010).

I.2.9.2.2.4 Situation géographique

Vu l'importance de la luminosité et de la température sur la production de la biomasse de spiruline, une plus longue exposition à la lumière avec des températures favorables entre 35°C et 37°C conduit à une importante augmentation de la production. Dans deux sites de production d'une même surface de 1000 m², situés en Hollande pour le premier et au Mexique pour le

second, la production annuelle de biomasse passe de 1,5 tonne à 3 tonnes dans un système ouvert et de 3,7 tonnes à 12,5 tonnes dans un photo bio réacteur respectivement (**Barsanti et Gualtieri**, 2018). Il en est de même dans une étude menée au Brésil où la production de spiruline est 6 fois plus importante dans un site exposé à une température entre 27°C et 37°C avec une luminosité de 75 à 1840 $\mu\text{mol}_{\text{photon}}/\text{m}^2/\text{s}$ par rapport à un site exposé à une température entre 19°C à 25°C et une luminosité de 22 à 558 $\mu\text{mol}_{\text{photon}}/\text{m}^2/\text{s}$. Les auteurs ont aussi noté une que la teneur de protéines et en phycocyanine est plus importante dans le premier site, 62% et 311mg/g contre 53% et 75mg/g (**de Jesus et al.**, 2018)

I.2.9.2.2.5 Réduction les coûts d'extraction

a réduction des coûts d'extraction des protéines constitue aussi une autre alternative dans la perspective de la réduction des prix des protéines de la spiruline (**Bleakley et Hayes**, 2017). Le coût d'extraction représente 50% à 60% du coût total des protéines de la spiruline (**Soto-Sierra et al.**, 2018; **Vermuë et al.**, 2018).

Dans cet objectif, l'évaluation du coût d'extraction des protéines à partir de la spiruline avec l'utilisation d'un prétraitement aux ultrasons et la Méthodologie de Surface de Réponse pourrait contribuer à la réduction des coûts de production.

Chapitre II. Matériel et méthodes.

II.1. Matériel végétal.

La poudre de spiruline est fournie par un producteur local de la région de Ouargla (31°56'57" N, 5°19'30" E) au sud-est de l'Algérie. La spiruline est cultivée dans des bassins, récoltée fraîche puis séchée sur des tréteaux pendant 6 heures. Le séchage solaire est possible dans cette région, la radiation solaire est importante, elle atteint 8557 Wh/m² au mois de juin (Mecibah *et al.*, 2014). La teneur en eau passe de 90% à 8% après le séchage.

II.2. Optimisation de l'effet des ultrasons.

II.2.1 Méthodologie de surface de réponse.

La Méthodologie de Surface de Réponse est un ensemble de techniques mathématiques ayant pour finalité de mesurer l'influence des variables sur la réponse finale. Grâce à des modèles mathématiques empiriques, elle permet de déterminer une relation entre les variables et la réponse afin d'obtenir une réponse souhaitable par l'optimisation des variables influentes. C'est, donc, un outil qui permet de contrôler les variables et expliquer leur effet sur la réponse (Anderson-Cook *et al.*, 2009). Afin de déterminer l'effet des ultrasons sur les propriétés fonctionnelles et l'extraction des protéines, un modèle de type Box-Benken Design (BBD) à trois paramètres est utilisé. Il a montré une meilleure efficacité dans le cas d'un modèle à trois paramètres grâce à ses nombreux avantages (voir Chapitre II.2.9.2).

Dans notre cas, les réponses sont la capacité de rétention d'eau, la capacité de rétention d'huile et le taux de protéines. Les variables communes aux réponses sont le temps et l'énergie de sonication tandis que pour chaque réponse une autre variable spécifique est ajoutée : pH pour la capacité de rétention d'eau, température pour la capacité de rétention d'huile et ratio solide liquide pour le taux de protéines.

Les résultats du comportement des surfaces de réponse sont expliqués par un modèle polynomial du second ordre :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \varepsilon,$$

Où y est la réponse, β_0 est un terme constant, β_i le coefficient linéaire du paramètre, X_i les variables et ε une valeur résiduelle associée à l'expérimentation (Stalikas *et al.*, 2009; Erbas *et al.*, 2016)

II.2.2. Evaluation du modèle

Le logiciel Statistica 10 (Statsoft Inc.) est utilisé pour déterminer les coefficients des polynômes de la réponse. La signification est estimée par le test de Fisher (valeur F) et de la valeur de p. Le modèle est vérifié par le coefficient de détermination R^2 , tandis que le test t vérifie la signification statistique.

Le diagramme de Pareto ou charte des estimations des effets montre l'effet de chaque variable avec une valeur nommée « effet standard » qui est un rapport entre la valeur de l'effet et sa déviation standard (Ferreira *et al.*, 2017). Aussi, le logiciel utilisé propose un graphe montrant la différence entre les valeurs prévues mathématiquement et les valeurs observées expérimentalement. La proximité entre les deux valeurs est un argument supplémentaire quant à la signification du modèle.

Dans le but de valider le modèle, l'analyse de la variance ANOVA est utilisée. Elle permet de vérifier que le modèle est adéquat en termes de coefficient d'estimation.

II.2.3. Profil de désirabilité

Développée par Derringer et Suich en 1960, la désirabilité a pour objectif de regrouper un ensemble de conditions ou de niveaux de variables produisant la plus désirable réponse. Pour cela, deux étapes sont nécessaires. La première consiste à prévoir des réponses en fonction des variables choisies par l'ajustement des réponses observées. Dans la seconde étape, il s'agit de trouver les niveaux des variables qui, simultanément, produisent la réponse la plus désirée (Candiotti *et al.*, 2014).

Le logiciel Statistica 10 (Statsoft Inc.) est utilisé pour avoir des tracés de contour 2D montrant le niveau des réponses. Dans les zones du graphique où la réponse est plus élevée, les niveaux de paramètres y correspondant sont prélevés. Les niveaux de désirabilité pour chaque réponse sont déterminés par le logiciel cité précédemment. La procédure de Derringer et Suich

transforme les valeurs prévues en un score unique et général de désirabilité. Ce score varie de 0 pour un résultat indésirable à 1 pour un résultat très désirable

II.3. Détermination des propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline.

II.3.1. La capacité de rétention d'eau.

La capacité de la protéine a été mesurée en utilisant une version modifiée de la méthode de **Yuliana et al.** (2014). La poudre de spiruline a été mélangée vigoureusement avec de l'eau (1:10, poids / poids) pendant 5 minutes. La suspension a ensuite été centrifugée (1500 g, 30 min).

Le surnageant a été pesé et la capacité de rétention d'eau a été déterminé par la formule suivante :

$$C = \frac{P_2 - P_1}{P_0}$$

P_0 est le poids de l'échantillon sec (g), P_1 le poids du tube et de l'échantillon sec (g) et P_2 le poids du tube et du sédiment (g) (**Yuliana et al.**, 2014). L'optimisation de la capacité de rétention d'eau a été déterminée par le BBD, le choix du niveau des paramètres est montré sur le Tableau 6. Le choix du pH comme paramètre est dû à sa forte influence sur la capacité de rétention d'eau (**Kinsella et Melachouris**, 1976), les deux autres paramètres se justifient par l'objectif de recherche d'une combinaison économique.

Tableau 6. Niveaux des variables pour la capacité de rétention d'eau.

Variables	-1	0	1
pH	4	7	10
Energie des ultrasons (%)	30	50	70
Temps des ultrasons (min)	5	10	15

En conséquence du nombre de variables, un protocole de 15 expériences est proposé par le BBD comme le montre le Tableau 7.

Tableau 7. Protocole expérimental pour l'optimisation de la capacité de rétention d'eau.

Expériences	pH	Energie de sonication (%)	Temps de sonication (mn)
1	-1	0	-1
2	0	0	0
3	-1	0	1
4	1	0	-1
5	-1	-1	0
6	1	0	1
7	0	1	-1
8	0	1	1
9	0	-1	1
10	0	0	0
11	1	1	0
12	0	0	0
13	-1	1	0
14	0	-1	-1
15	1	-1	0

II.3.2. Détermination de la capacité de rétention d'huile.

La capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline a été déterminée en utilisant la méthode de Yuliana et al. (2014). La poudre de spiruline (1 g) a été mélangée à de l'huile de tournesol (5 cm³) pendant 1 h à 30 °C. Le mélange a été centrifugé (1500 g, 30 min), et l'huile a été décantée. Le mélange piégé dans l'huile a été mesuré.

La capacité de rétention d'huile, exprimée en ml d'huile, est calculée par la formule suivante :

$$H = \frac{v_1 - v_2}{P}$$

P est le poids de l'échantillon sec (g), V1 est le volume de la poudre et de l'huile contenues dans le tube et V2 est le volume de l'huile restante (ml) (Yuliana *et al.*, 2014).

L'optimisation de la capacité de rétention d'huile a été déterminée par le BBD, le choix et niveau des variables est montré sur le Tableau 8.

Tableau 8. Niveaux des variables pour la capacité de rétention d'huile.

Variabes	-1	0	1
Température (°C)	25	35	50
Energie des ultrasons (%)	30	50	70
Temps des ultrasons (min)	5	10	15

Le choix de la température comme paramètres est dû à son influence sur la capacité de rétention d'huile (Zayas, 1997a). Pour les deux autres variables, à l'instar de la capacité de rétention d'eau, l'intérêt du choix se justifie par l'objectif de la réduction des coûts. En conséquence du nombre de variables, un protocole de 15 expériences est proposé par le BBD comme le Tableau9.

Tableau 9. Protocole expérimental pour l'optimisation de la capacité de rétention d'huile.

Expériences	Température	Energie de sonication	Temps de sonication
1	0	0	0
2	0	0	0
3	1	0	1
4	1	0	-1
5	-1	-1	0
6	-1	1	0
7	1	1	0
8	0	-1	-1
9	0	0	0
10	-1	0	1
11	1	-1	0
12	0	1	1
13	0	-1	0
14	0	1	-1
15	0	-1	1

II.4. Détermination des isothermes de sorption.

II.4.1. Procédure expérimentale

Les isothermes de sorption d'humidité à 25 °C et à 40 °C ont été déterminées par la méthode gravimétrique statique (Wolf *et al.*, 1985). Des échantillons, environ 1 g de spiruline, ont été pesés et placés dans un récipient scellé, trois échantillons par récipient.

Différentes solutions de 100 ml, de 10% à 90% (eau purifiée + H₂SO₄) ont été utilisées comme solution électrolytique. A chaque concentration correspond une activité de l'eau comme le montre le Tableau 1 cité en Annexes.

Pour prévenir la croissance de moisissures, un petit plat contenant du thymol est placé dans les récipients où l'activité de l'eau est supérieure à 0,7. Les récipients ont été placés à 25°C et à 40°C dans un étuve.

Les échantillons ont été pesés après trois semaines. La teneur en humidité à l'équilibre a été mesurée à l'aide d'un humidimètre à infrarouge (Sartorius) . Les valeurs observées sont la moyenne de trois échantillons en poids.

II.4.2. Modélisation mathématique.

La régression non linéaire est appliquée pour déterminer le modèle mathématique GAB, décrit par l'équation ci-dessous (Blahovec et Yanniotis, 2007). La teneur en humidité de la monocouche (X_m) est la quantité d'eau adsorbée à la surface, elle mesure la disponibilité des sites de sorption actifs (Muzaffar et Kumar, 2016). C'est la constante d'énergie liée à la chaleur de sorption, K est lié à la chaleur de sorption de la multicouche.

$$X : (X_m C K a_w) / ((1-Ka_w) (1 - Ka_w + CKa_w))$$

Où :

X : Teneur en humidité.

a_w : Activité de l'eau

X_m : Teneur en eau correspondant à l'occupation de tous les sites de sorption de la couche mono moléculaire, exprimée en %.

C : Constante de GAB

K : Facteur correctif aux propriétés de la multicouche.

C et K sont définis par les équations ci-dessous. T est la température absolue (° K), R est la constante de gaz universelle (8314 J mol⁻¹ K⁻¹), ΔH₁ et ΔH₂ sont des fonctions de sorption de chaleur:

$$C = C_0 \exp \Delta H_c / RT$$

$$K = K_0 \exp \Delta H_k / R$$

Où,

$$\Delta H_c = H_m - H_n \quad (5)$$

$$\Delta H_k = H_l - H_n \quad (6)$$

H_m est la chaleur de sorption de la monocouche, H_n est la chaleur de sorption de la multicouche et H_l la chaleur de condensation de l'eau (43 KJ / mol) à 25 °C.

II.4.3. Evaluation du modèle.

Afin d'évaluer le modèle, nous utilisons, outre le coefficient de détermination R², l'erreur quadratique moyenne (RMSE), et l'écart relatif moyen (MRD) (Caballero-Cerón *et al.*, 2015)

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (X_{i,calc} - X_{i,exp})^2}{\sum_{i=1}^n (X_{i,exp} - X_{i,calc})^2}$$

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{i,calc} - X_{i,exp})^2}$$

$$MRD = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \text{abs} \left[\frac{X_{i,calc} - X_{i,exp}}{X_{i,exp}} \right]$$

Où

n: nombre total d'observations,

X_i calc: valeur prévue

X_i exp: valeur expérimentale

II.3.4. La Chaleur iso stérique de sorption.

La chaleur de sorption iso stérique est la quantité d'énergie nécessaire pour transformer une masse unitaire de produits de liquide en vapeur à une température et pour une activité de l'eau particulière (Toğrul et Arslan, 2007). Elle est déterminée par l'équation de Clausius-Clayperon :

$$\ln\left(\frac{a_{w1}}{a_{w2}}\right) = -\frac{\Delta H_b}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right]$$

ΔH_b est la chaleur de sorption iso stérique (Kj / mol), a_{w1} et a_{w2} sont respectivement l'activité de l'eau aux températures T_1 et T_2 (°K) et R est la constante de gaz parfait.

La chaleur nette de sorption iso stérique (q_{st}) est la différence entre la chaleur totale de sorption (Q_{st}) et la chaleur de vaporisation de l'eau (ΔH_o). Il peut être déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$q_{st} = Q_{st} - \Delta H_o$$

II.5. Extraction de protéines

Pour l'extraction des protéines, la méthode de **Barbarino et Lourenço** (2005) modifiée a été utilisée (**Barbarino et Lourenço**, 2005) La poudre de spiruline a été ajoutée à de l'eau purifiée. La suspension est agitée jusqu'à obtention d'une solution homogène. La solution est introduite dans un bain à ultrasons (Fisher bioblock Transonic TI-H, 25–45 kHz).

Ensuite une solution de NaOH IN est ajoutée jusqu'à pH 10. La suspension est alors centrifugée (Hettich EBA 8, Allemagne) à 7 000 tr / min pendant 30 min. Après collecte du surnageant, du ATC 0,3 M a été ajouté jusqu'à pH 3. La solution subit une autre centrifugation à 7 000 tr / min pendant 30 min; les grains ont été recueillis et neutralisés à pH 7 avec NaOH IN et conservés pour des essais ultérieurs.

II.5.1 Teneur en protéines.

La teneur en protéines a été obtenue par la méthode de Lowry (**Slocombe et al.**, 2013). Le réactif Folin – Ciocalteu (Sharlau, Belgique) a été dilué dans deux volumes d'eau purifiée (1: 2) et 0,5 ml du réactif dilué ont été ajoutés à 1,0 ml d'échantillon, préalablement mélangés à 5,0 ml du réactif «C» [50 volumes de «A» réactif (2,0% de $Na_2Cu_3 + NaOH$ 0,1 N) +1 volume de «B» réactif (1/2 volume de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ + 1/2 volume de 1,0% de $C_4H_4NaO_6 \cdot 4H_2O$)]. Ensuite, après, les échantillons ont été agités pendant 2 s dans un agitateur à tube à essai. L'absorbance

a été mesurée à 750 nm, 35 minutes après le début de la réaction chimique à température ambiante (Ahmed, 2004). Nous remarquons le changement de couleur du prélèvement vers le bleu après l'ajout du réactif de Folin – Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage (Figure 8) est préparée pour chaque essai en utilisant une solution mère d'albumine de sérum bovin (BSA) (200 mg / l). Une courbe standard est générée sous la forme d'équation $y = ax + b$ (Microsoft Excel, 2010), le coefficient de corrélation (R^2) est significatif, la valeur est 0,99. L'absorbance spectrophotométrique a été convertie en concentration en protéines à l'aide de la courbe d'étalonnage établie à l'aide de l'équation suivante.

$$\text{Protéines (\% P/ P)} = \frac{CVD}{m} \times 100$$

C'est la concentration en protéines (mg / ml) obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (Figure 16) , V est le volume (L) du tampon de lyse utilisé pour remettre en suspension la biomasse, D le facteur de dilution (6,25) et m la quantité de biomasse (mg).

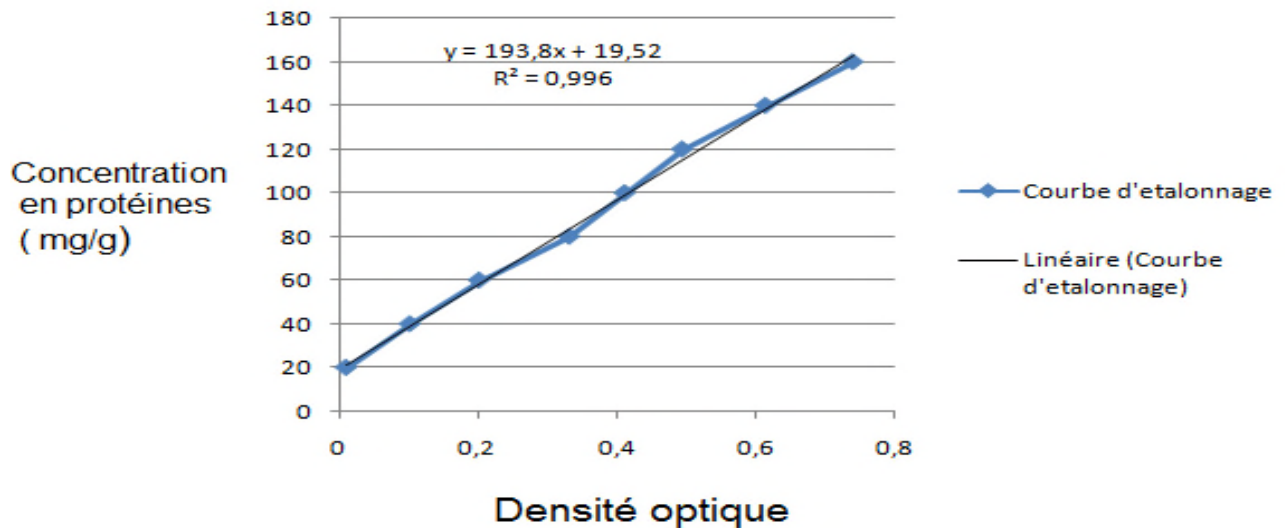


Figure 13 Obtention de la concentration de protéines à partir de la courbe d'étalonnage.

II.5.2. Optimisation de l'extraction des protéines.

L'optimisation de l'extraction des protéines a été déterminée par le BBD, le choix et niveau des variables est montré sur le Tableau 10. Le choix du ratio solide/liquide a montré son influence dans plusieurs études comme l'extraction des protéines des protéines du riz (**Phongthai et al.**, 2016).

Tableau 10. Niveaux des variables pour l'extraction des protéines

Variabes	-1	0	1
Ratio solide / liquide (mg/ml)	1 :100	3 :100	5 :100
Energie des ultrasons (%)	30	50	70
Temps des ultrasons (min)	4	8	12

En conséquence du nombre de variables, un protocole de 15 expériences est proposé par le BBD comme le Tableau 11.

Tableau 11. Protocole expérimental pour l'optimisation de l'extraction des protéines.

Essais	Ratio solide -liquide	Energie de sonication (%)	Temps de sonication (min)
1	0	0	0
2	0	1	-1
3	-1	0	-1
4	1	0	-1
5	0	1	1
6	0	-1	-1
7	1	1	0
8	1	0	1
9	0	0	0
10	-1	-1	0
11	-1	0	1
12	-1	1	0
13	1	-1	0
14	0	0	0
15	0	-1	1

II.5.3. Calcul du coût d'extraction.

Le calcul du coût d'extraction se fait à travers le logiciel LINDO utilisé pour résoudre les modèles d'optimisation linéaires, entiers et quadratiques. La méthode consiste à établir une équation du premier degré qui implique les trois paramètres : où x est le prix du gramme de la poudre de protéines représentant le paramètre ratio solide liquide , y la consommation du courant électrique représentant le paramètre énergie de sonication et z le prix du courant électrique par minute

Ensuite, introduire les équations de l'optimisation entre deux paramètres. Les équations sont limitées par les extremums de chaque paramètre prélevés sur les graphes.

Chapitre III. Résultats et discussion

III.1. Détermination des propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline.

III.1.1. Optimisation de l'effet des ultrasons sur la capacité de rétention d'eau de la spiruline.

Dans le but d'optimiser la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline préalablement traitée par ultrasons, nous avons utilisé la Méthodologie de Surface de Réponse (MSR). Le logiciel Statistica 10 (Statsoft,USA) a été utilisé pour la conception d'un plan de 15 expériences, type Box-Behnken, nous permettant de déterminer la combinaison optimale entre les trois paramètres (pH, énergie de sonication, temps de sonication). En conséquence, par la MSR, nous avons pu déterminer l'équation qui permet de calculer la capacité de rétention d'eau en variant les différents paramètres.

III.1.1.1. Ajustement du modèle.

Une évaluation du modèle quadratique de surface de réponse a été effectuée par l'analyse de la variance (ANOVA) comme le montre le Tableau 12.

Tableau 12. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline.

Variables	Somme des carrés	df (degré de liberté)	Moyenne des carrés	F	p
(1)pH L+Q	0,43	2,00	0,22	3177	0,011
(2)Energie de sonication L+Q	0,01	2,00	0,00	5 ,07	0,095
(3)Temps de sonication L+Q	0,64	2,00	0,32	4,28	0,05
Erreur	0,59	8,00	0,07		
Total somme des carrés	1,64	14,00			

L'influence des paramètres est significative si la valeur de F (test de Fisher) est élevée et la valeur de p inférieure à 0,05 (**Tan et al.**, 2014). De ce fait, le modèle est significatif vu que la valeur de F est de 3177 et la valeur de p inférieure à 0,05. L'effet de chaque paramètre sur le modèle est montré sur le diagramme de Pareto (Figure 14). Le temps de sonication est le paramètre le plus influent avec un effet quadratique, le pH et l'énergie de sonication restent moins influents. En outre, la Figure 15 montre la différence entre les valeurs observées et les valeurs prévues. Nous remarquons une légère différence entre ces valeurs, le coefficient de variation étant de 3,62% et un coefficient de détermination de 0,93.

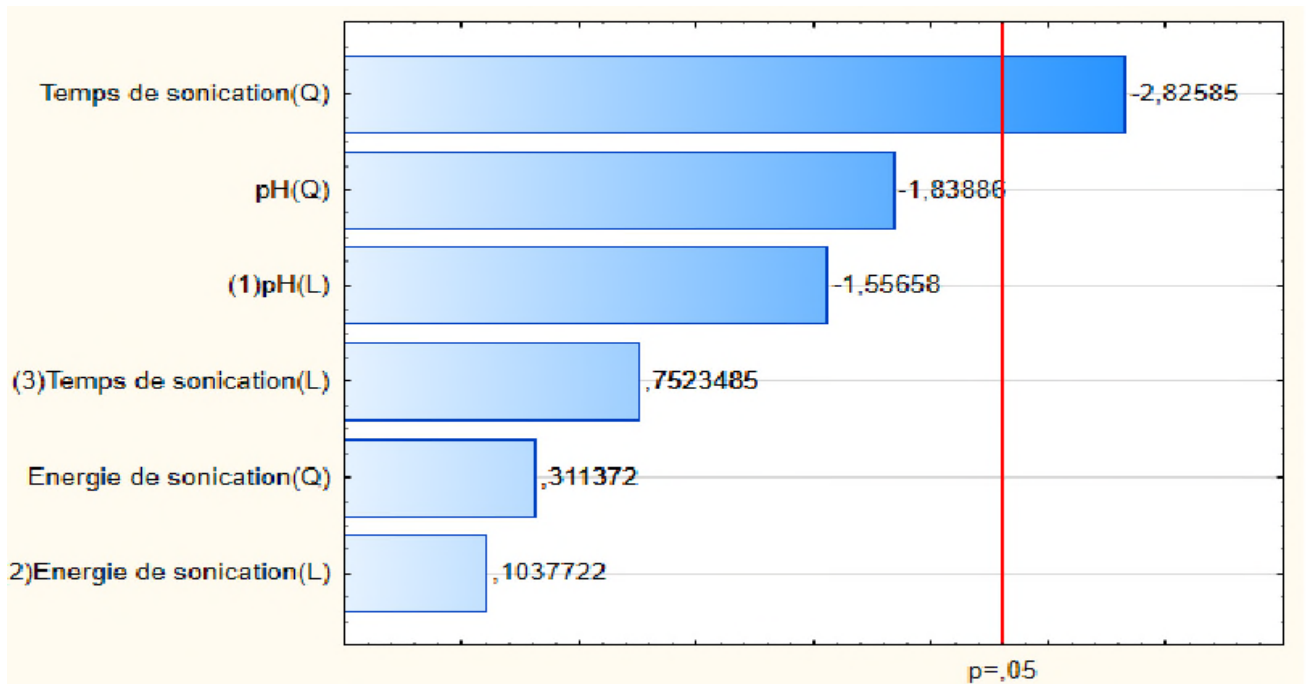


Figure 14. Diagramme de Pareto des effets pour la capacité de rétention d'eau.

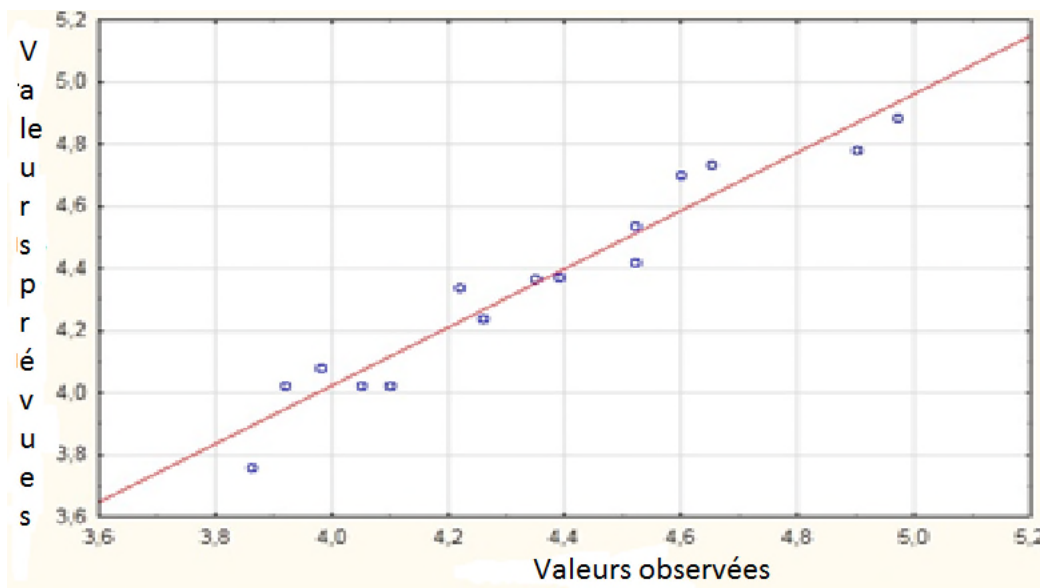


Figure 15. Valeurs observées et valeurs prévues de la capacité de rétention d'eau de la poudre de Spiruline.

Tableau 13. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline.

Variables	Effect	- Std.Err	t	p	-95,00% - Cnf.Lmt	+95,00% - Cnf.Lmt	-95,00% - Cnf.Lmt	+95,00% - Cnf.Lmt
Intercept	4,02	0,08	49,35	0,00	3,81	4,23		
pH	-0,15	0,05	-3,00	0,03	-0,28	-0,02	-0,33	0,11
pH^2	0,26	0,07	3,55	0,02	0,07	0,45	0,39	0,11
Energie de sonication	0,01	0,05	0,20	0,85	-0,12	0,14	0,02	0,11
Energie de sonication^2	-0,04	0,07	-0,60	0,57	-0,23	0,14	-0,07	0,11
Temps de sonication	0,07	0,05	1,45	0,21	-0,06	0,20	0,16	0,11
Temps de sonication^2	0,40	0,07	5,45	0,00	0,21	0,59	0,61	0,11
pH*Energie de sonication	0,32	0,07	4,53	0,01	0,14	0,50	0,50	0,11
pH*Temps de sonication	0,13	0,07	1,77	0,14	-0,06	0,31	0,20	0,11
Energie de sonication* Temps de sonication	0,08	0,07	1,06	0,34	-0,11	0,26	0,12	0,11

En se basant sur le tableau de l'estimation des effets (Tableau 13, l'équation polynomiale du second ordre représentant la capacité de rétention d'eau en fonction des variables a été déterminée :

$$Y = 4.02 - 0.150 * (\text{pH}) + 0.260 * (\text{pH})^2 + 0,4(\text{TS}) + 0,32(\text{ES}) * (\text{pH})$$

Où :

Y : Capacité de rétention d'eau (%).

TS : Temps de sonication (min).

ES : Energie de sonication (%).

Les coefficients d'estimation indiquent une contribution positive du pH en terme linéaire et quadratique, du temps de sonication en terme quadratique et de l'interaction du rapport pH avec l'énergie de sonication. On peut donc conclure que la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline augmente avec l'augmentation en terme quadratique du pH et du rapport entre le

pH et l'énergie de sonication. Par contre, l'augmentation du pH en terme linéaire provoque une diminution de la capacité de rétention d'eau.

III.1.1.2 Analyse des surfaces de réponse.

Dans le but d'étudier l'effet combiné des différents paramètres sur la capacité de rétention d'eau, des courbes de surface de réponse à trois dimensions ont été tracées en variant deux paramètres, le troisième reste maintenu à son niveau central. Ces courbes sont montrées sur la Figure 16 (a-c), chaque courbe illustre l'interaction de deux variables : Le pH et l'énergie de sonication avec le temps de sonication maintenu à 10 min, le pH et le temps de sonication avec l'énergie de sonication maintenue à 50% et le temps et l'énergie de sonication avec le pH maintenu à 7.

L'effet du temps de sonication et du pH est significatif, l'augmentation du temps de sonication provoque une augmentation de la capacité de rétention d'eau, tandis qu'une diminution de la capacité de rétention d'eau est observée quand le pH augmente (Figure 16(a)). Sur la Figure 16 (b), on observe l'effet significatif du temps dont l'augmentation provoque une augmentation de la capacité de rétention d'eau, l'effet de l'énergie de sonication n'étant pas visible. Par ailleurs, l'effet quadratique du pH est significatif comme le montre la Figure 16 (c), l'augmentation de la capacité de rétention d'eau augmente quand le pH diminue. Cette tendance a aussi été constatée pour le concentré de protéines du pois fourrager (**Mune Mune et al.**, 2014). Par contre, pour l'isolat protéique de spiruline, l'augmentation du pH provoque une augmentation de la capacité de rétention d'eau, mais la diminution du pH reste sans effet (**Benelhadj et al.**, 2016). L'auteur explique ce résultat par la polarité de l'isolat protéique qui augmente la capacité de rétention d'eau. Concernant l'effet significatif des ultrasons, il a été confirmé par **Higuerra-Barraza et al.**(2016) ou une exposition de 20 minutes aux ultrasons a augmenté la capacité de rétention d'eau (**Higuera-Barraza et al.**, 2016).

Par ailleurs, l'effet du pH a aussi été observé pour le concentré de protéines du pois fourrager. En effet, une augmentation du pH provoque une diminution de la capacité de rétention d'eau (**Mune Mune et al.**, 2014). Par contre pour l'isolat protéique de spiruline, c'est l'augmentation du pH qui a provoqué une augmentation de la capacité de rétention d'eau tandis que la diminution du pH n'a pas d'effet significatif, l'auteur explique ce résultat par la polarité de l'isolat protéique qui augmente la rétention d'eau (**Benelhadj et al.**, 2016).

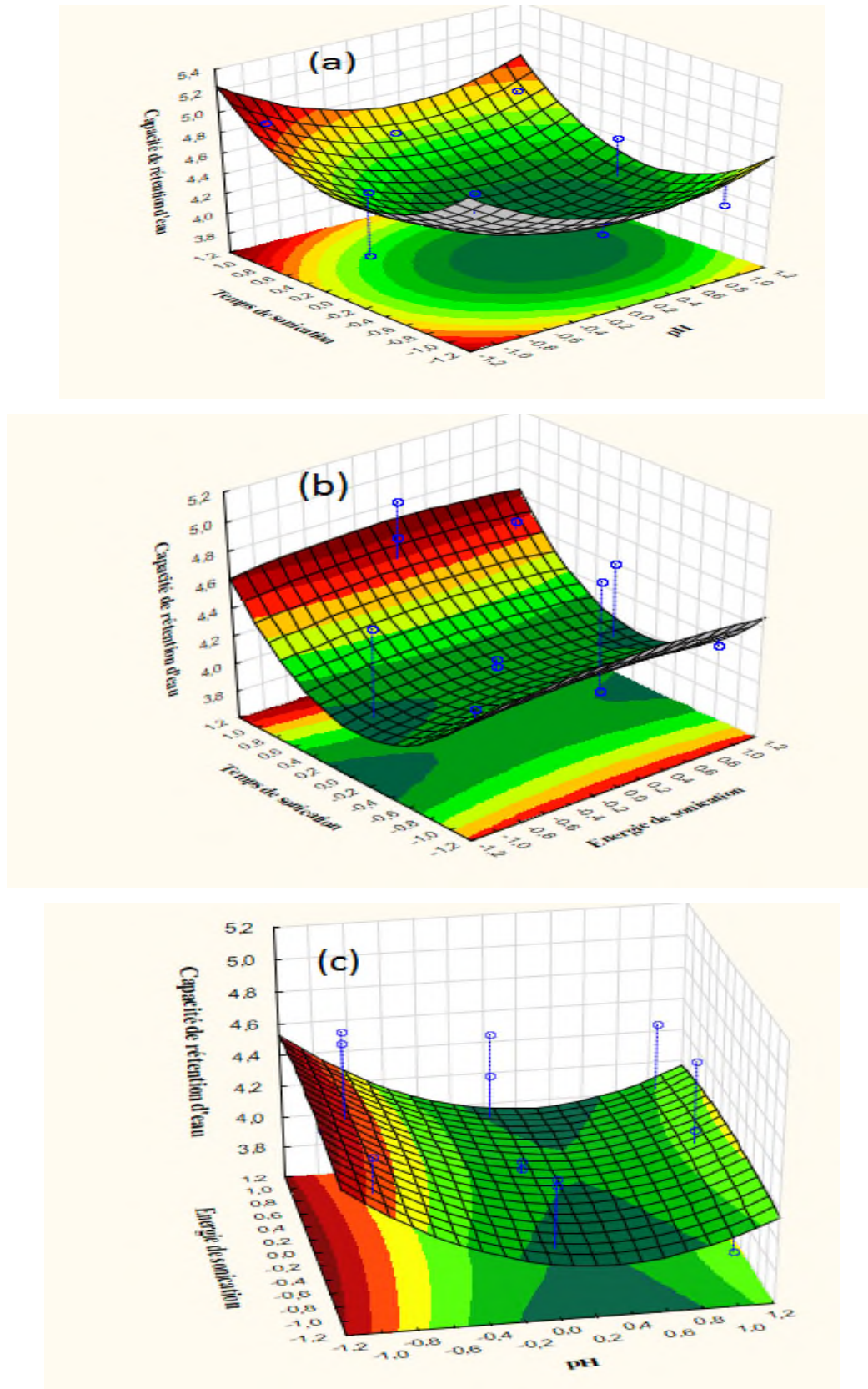


Figure 16. Surfaces de réponse 3D de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline en fonction (a) du pH et du temps de sonication, (b) de l'énergie et du temps de sonication, (c) du pH et de l'énergie de sonication.

III.1 .1 .3 Résultats du modèle.

Le Tableau 14 nous montre les résultats obtenus de la capacité de rétention d'eau selon les 15 expériences du Box-Behnken.

Tableau 14. Le plan expérimental de Box-Behnken et les valeurs de réponses observées pour la capacité de rétention d'eau.

Expériences	Variable codées			Variables non codées			Capacité de rétention d'eau (g)
	X ₁	X ₂	X ₃	pH	Energie (%)	Temps (min)	
1	-1	0	-1	4	50	5	4,97
2	0	0	0	7	50	10	3,92
3	-1	0	1	4	50	15	4,9
4	1	0	-1	10	50	5	4,22
5	-1	-1	0	4	30	10	4,6
6	1	0	1	10	50	15	4,65
7	0	1	-1	7	70	5	4,26
8	0	1	1	7	70	15	4,52
9	0	-1	1	7	30	15	4,35
10	0	0	0	7	50	10	4,05
11	1	1	0	10	70	10	4,52
12	0	0	0	7	50	10	4,1
13	-1	1	0	4	70	10	3,98
14	0	-1	-1	7	30	5	4,39
15	1	-1	0	10	30	10	3,86

La valeur maximale de la capacité de rétention d'eau est de 4,97 g d'eau/ g de spiruline, tandis que la valeur minimale est de 3,86 g d'eau/g de spiruline. Ces valeurs montrent l'effet positif des ultrasons, car, dans une étude sans utilisation des ultrasons, la capacité de rétention d'eau était de 2,2 g d'eau/g spiruline (**Devi et Venkataraman**, 1984). Cette valeur est aussi supérieure à celles obtenues pour la farine de maïs et le mélange farine de maïs avec farine de blé(**Shad et al.**, 2013). Il en est de même pour la farine de différents légumes secs, à savoir pois chiches, lentilles, haricots et fèves (**Du et al.**, 2014), et l'isolat protéique de petit pois (**Stone et al.**, 2015). Cette valeur élevée de la capacité de rétention d'eau peut être expliquée par la présence simultanée de protéines et de polysaccharides dans la poudre de spiruline, la présence de ces derniers améliore la capacité de rétention d'eau (**Zhu et al.**, 2010). En conséquence, la

poudre de spiruline peut être utilisée dans la préparation d'aliments visqueux tels que les soupes, les produits de panification, les sauces(AOAC, 1990).

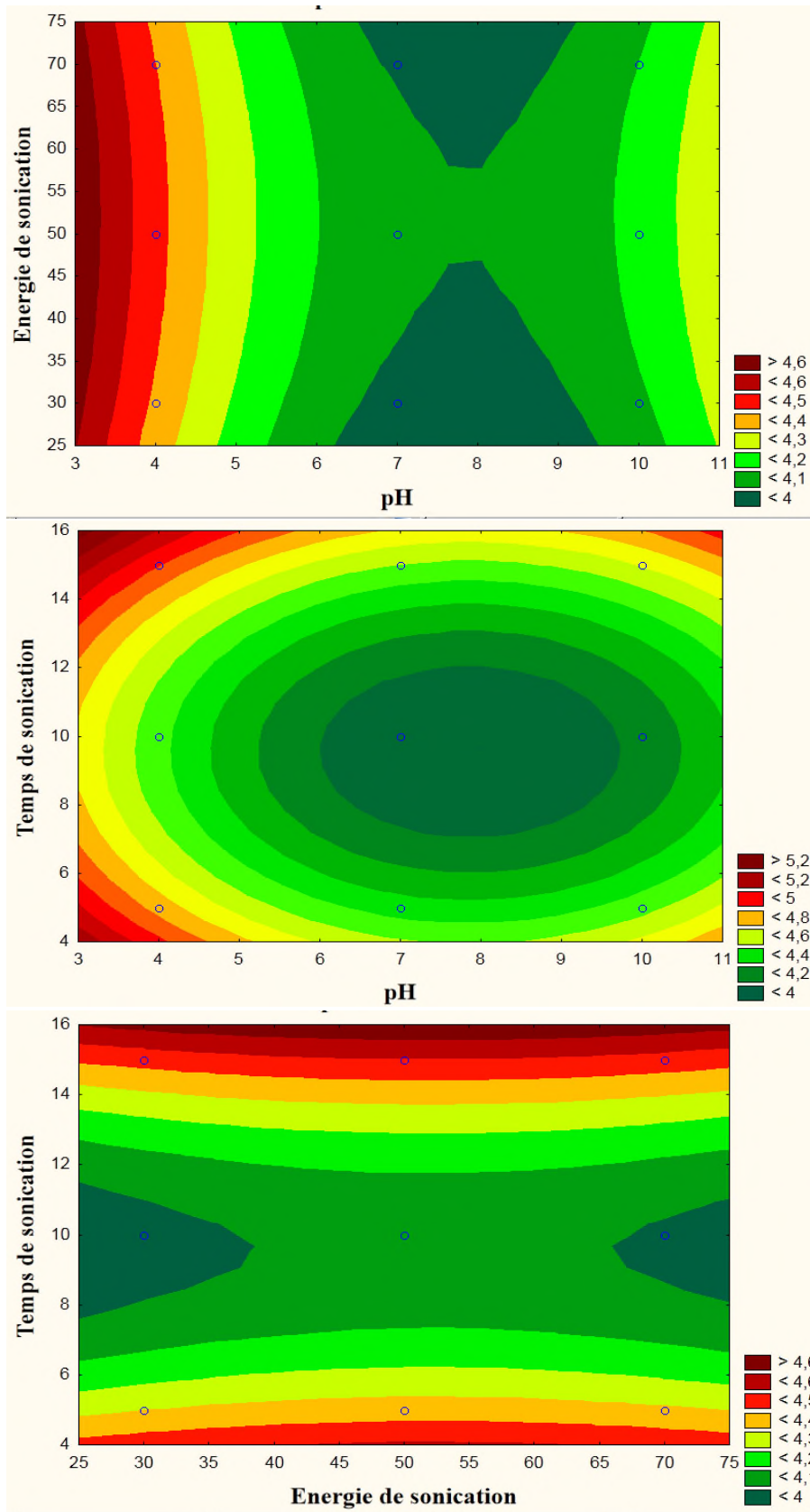
III.1.1.4 Optimisation de la capacité de rétention d'eau.

Le but de ce chapitre est de déterminer les conditions optimales de la capacité de rétention d'eau. Etant donné que le modèle mathématique est valide, nous avons réalisé les tracés de contour 2D afin de trouver la solution optimale. Ainsi, deux facteurs sont maintenus à leur niveau central, le troisième facteur varie de sa valeur minimale, puis centrale ensuite maximale. La réponse optimale est visible sur la région la plus foncée de la courbe. Donc, nous pouvons déterminer la valeur de chaque facteur donnant la réponse optimale à partir du graphique (Bouzaouit et Bidjou-Haiour, 2015). Ainsi la Figure 17 nous donne les tracés de contour 2D où la troisième variable est maintenue à son niveau central. Sur deux courbes, nous pouvons constater l'obtention d'une capacité de rétention d'eau supérieure à 5,2 g d'eau / g de poudre de spiruline, d'où les valeurs optimales sont déterminées.

Sur la Figure 18, nous remarquons que l'effet combiné du pH et du temps de sonication à leur niveau central donne un résultat supérieur aux valeurs expérimentales. Donc, on peut déterminer les valeurs des paramètres relatifs à ce résultat. Au niveau maximal de l'énergie de sonication, nous avons obtenu une capacité de rétention d'eau supérieure à 5,2 nous permettant, ainsi, de déterminer les valeurs optimales des paramètres avec lesquelles ce résultat a été obtenu.

Nous remarquons sur la Figure 19, que les meilleurs résultats de la capacité de rétention d'eau sont obtenus au niveau minimal des paramètres ou la capacité de rétention d'eau est supérieure à 5 dans les trois cas. Les résultats déjà obtenus lors des combinaisons précédentes sont ainsi confirmés.

Donc, nous remarquons que l'effet combiné du pH et du temps de sonication à leur niveau central donne un résultat supérieur aux valeurs expérimentales. Donc, on peut déterminer les valeurs des paramètres relatifs à ce résultat. En conséquence, les valeurs optimales non codées sont les suivantes :



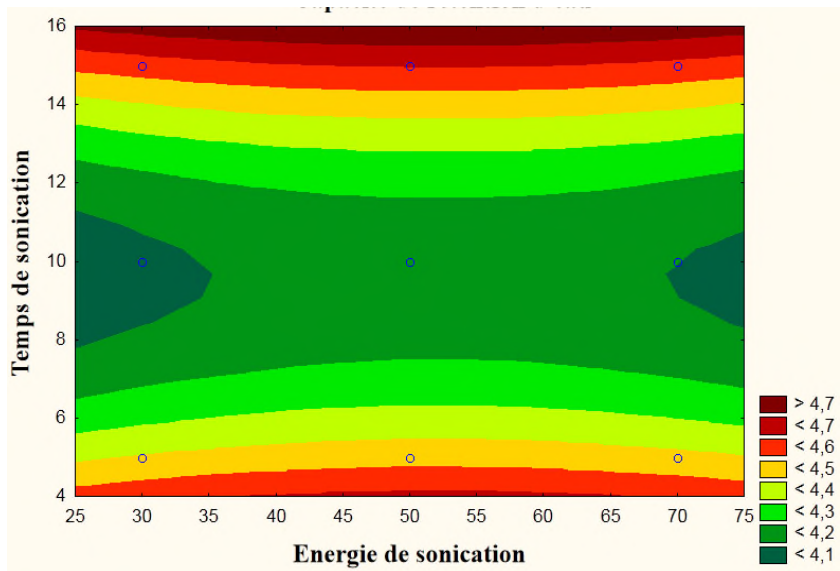
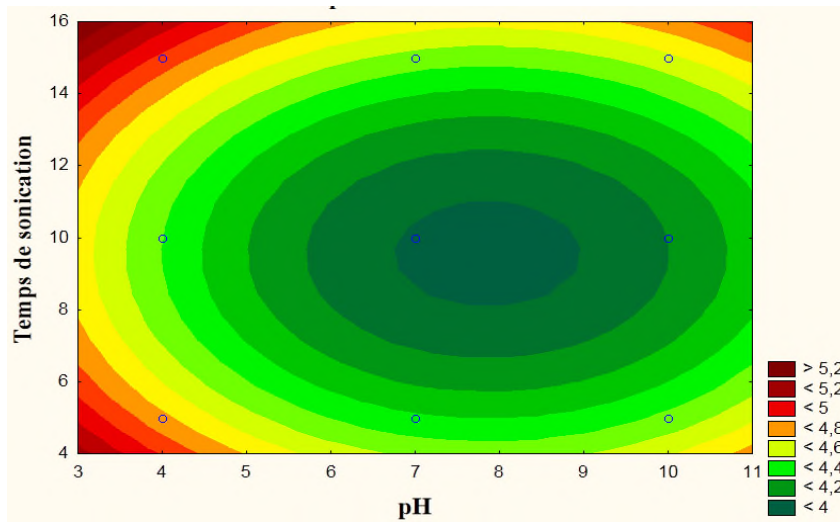
Valeurs retenues :

pH : 3

Temps de sonication : 16 min

Energie de sonication : 50%

Figure 17. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central.



Valeurs retenues :

pH : 3

Temps de sonication : 16 min

Energie de sonication : 50%

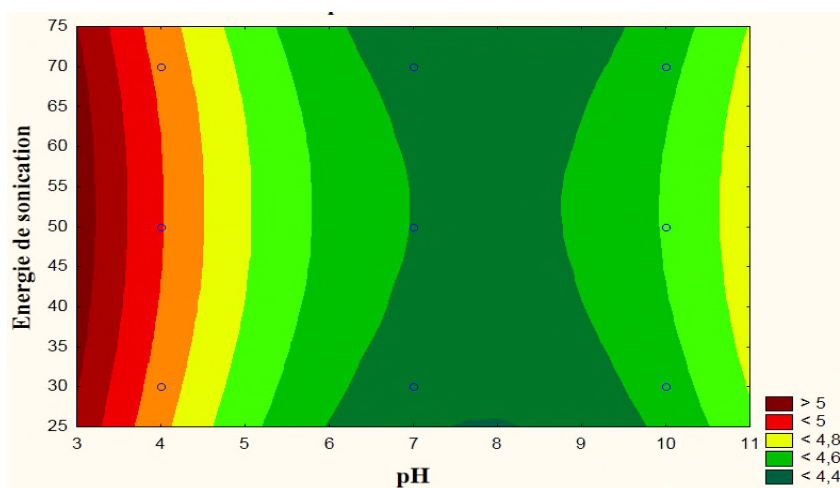
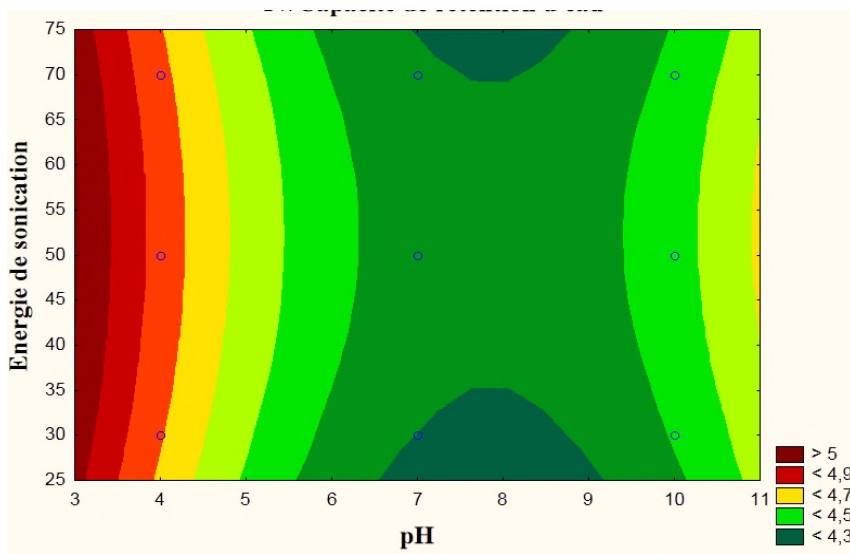
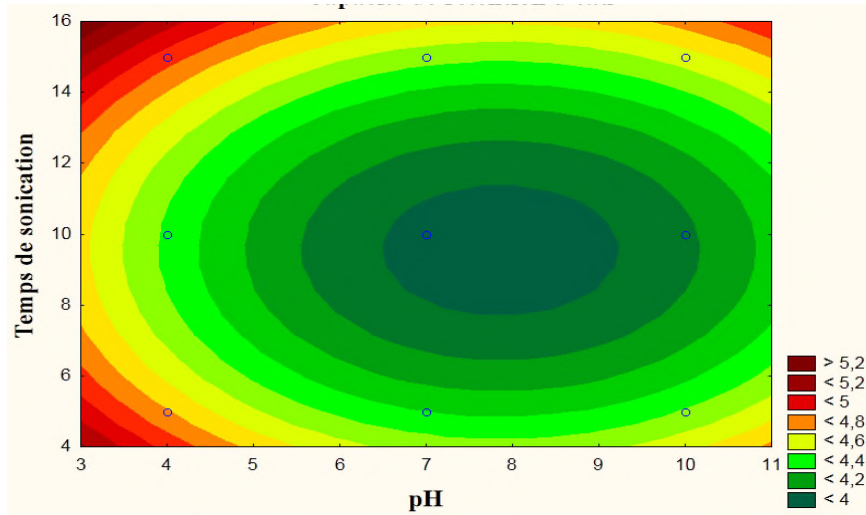


Figure 18. Tracé de contour en 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximal.



Valeurs retenues :

pH : 3

Temps de sonication : 16 min

Energie de sonication : 50%

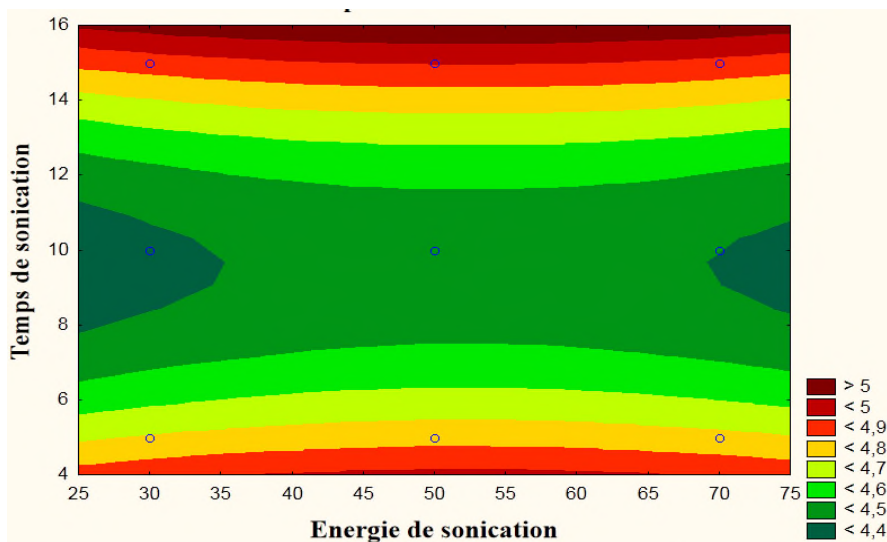


Figure 19. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau minimal.

pH : 3

Temps de sonication : 16 min

Energie de sonication :50 %

La fonction de désirabilité déterminée par le logiciel Statistica 10 (Statsoft, Inc) a donné un taux optimal de la capacité de rétention d'eau de 5,35 g d'eau. Ce résultat n'a pas été obtenu dans les 15 expériences du Box-Behnken Design. La Figure 20 montre le profil de désirabilité réalisée avec la méthode quadratique, nous remarquons que cette valeur se situe dans l'espace de confiance pour les trois variables, et que la désirabilité est proche de 1 prouvant ainsi que le modèle est adéquat. (Candiotti *et al.*, 2014) ; cette valeur a été obtenue lorsque pH est à son niveau minimal et le temps de sonication au niveau maximal. Cette tendance est confirmée par le tableau des valeurs de désirabilité (Tableau 15) en fonction des niveaux de chaque paramètre où nous remarquons que la valeur de désirabilité est à son maximum quand le pH est à son niveau minimal, le temps de sonication à son niveau maximal. Quant à l'énergie de sonication, sa variation n'a pas d'effet significatif sur le résultat. Aussi, l'influence de chaque paramètre est fournie par le logiciel précédemment cité.

III.1.1.4.1 pH

Le score de désirabilité est influencé par le pH, il est à son maximum à pH 4. Ce score est au minimum quand le pH est neutre et augmente légèrement à pH alcalin comme le montre la Figure 20(a)

III.1.1.4.2 Energie de sonication.

Sur la Figure 20(b), on remarque l'importance l'énergie de sonication sur le score désirabilité qui est à son maximum quel que soit la valeur de l'énergie de sonication. En conséquence, la variabilité de l'énergie de sonication ne modifie pas le score de désirabilité.

III.1.1.4.3 Le temps de sonication

La figure 20(c) montre clairement que la variabilité du temps de sonication est le paramètre le plus influent. Le score de désirabilité est à son maximum aux valeurs extrêmes du temps de sonication et à son minimum au niveau central. Le meilleur score est obtenu quand le temps de sonication est de 16 min.

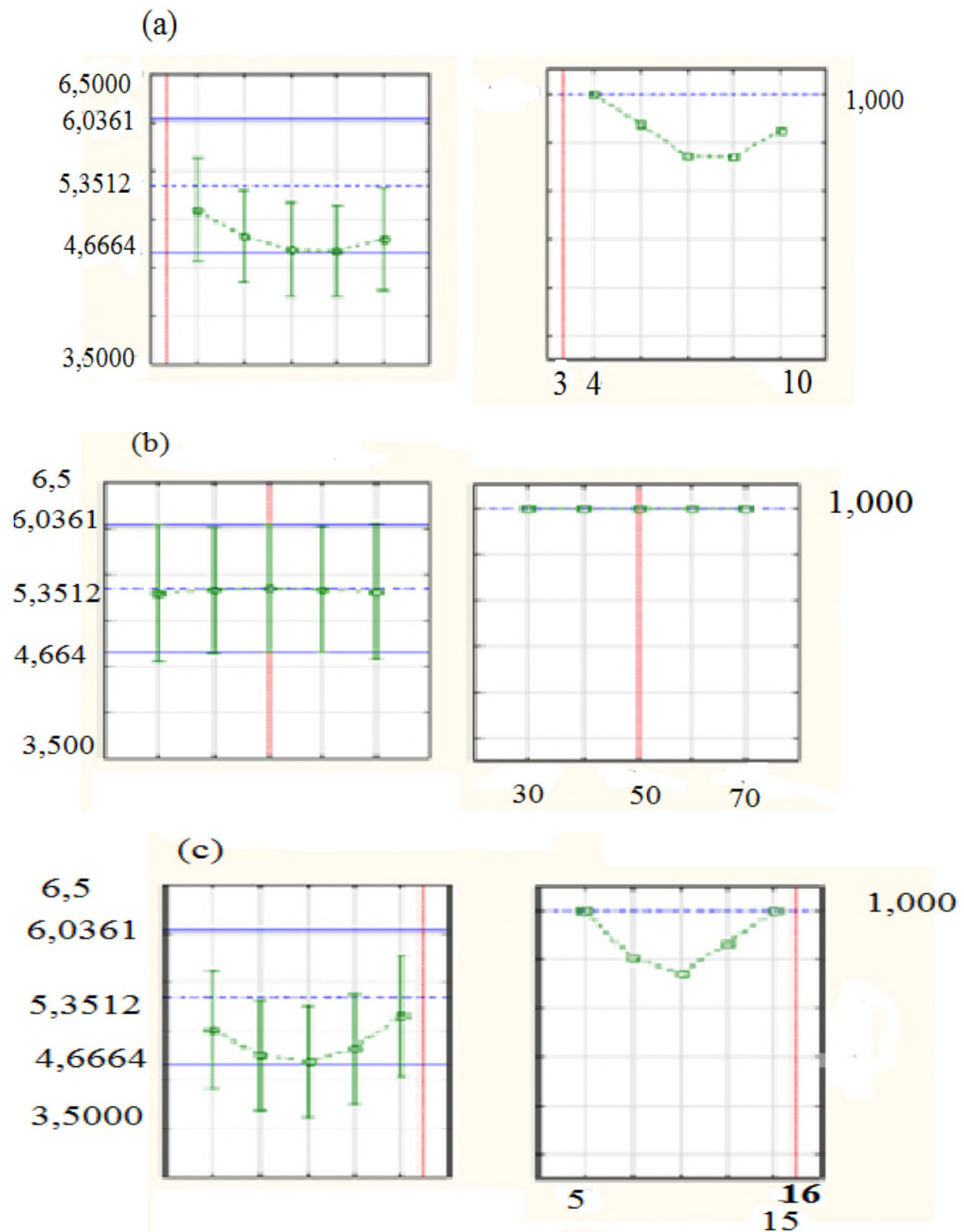


Figure 20. Profil de la fonction de désirabilité de la capacité de rétention d'eau , (a) pH, (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication.

Tableau 15 . Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline

	Niveau du paramètre	Valeur prévue de la capacité de rétention d'eau	Valeur de désirabilité
pH	4,00	5,10	1,00
pH	5,50	4,83	0,87
pH	7,00	4,69	0,75
pH	8,50	4,68	0,74
pH	10,00	4,80	0,85
Energie de sonication	30,00	5,30	1,00
Energie de sonication	40,00	5,34	1,00
Energie de sonication	50,00	5,35	1,00
Energie de sonication	60,00	5,35	1,00
Energie de sonication	70,00	5,32	1,00
Temps de sonication	5,00	5,02	1,00
Temps de sonication	7,50	4,75	0,80
Temps de sonication	10,00	4,69	0,75
Temps de sonication	12,50	4,82	0,87
Temps de sonication	15,00	5,16	1,00

Nous pouvons aussi vérifier le résultat de la fonction de désirabilité en calculant la capacité de rétention d'eau à partir de l'équation ci-dessous en introduisant les valeurs des paramètres retenues à partir des graphes de contour 2D.

$$Y = 4.02 - 0.150 * (\text{pH}) + 0.260 * (\text{pH})^2 + 0,4(\text{TS}) + 0,32(\text{ES}) * (\text{pH})$$

Le résultat obtenu est de 5,8, résultat supérieur au résultat expérimental maximal, confirmant ainsi le résultat obtenu par la fonction de désirabilité.

III.1.2. Optimisation de l'effet des ultrasons sur la capacité de rétention d'huile de la spiruline.

A l'instar de l'optimisation de la capacité de rétention d'eau de la poudre de spiruline, préalablement traitée par ultrasons, nous avons utilisé la MSR avec le logiciel Statistica 10 (Statsoft,USA) pour la conception d'un plan de 15 expériences, type Box-Behnken. La combinaison optimale entre les trois paramètres (Température, énergie de sonication, temps de sonication) étant le but de ce plan d'expérience avec, en définitive, la détermination de l'équation qui permet de calculer la capacité de rétention d'huile en variant les paramètres cités.

III.1.2.1 Ajustement du modèle.

L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée pour l'évaluation du modèle quadratique de surface de réponse comme le montre le tableau 16.

Tableau 16. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.

Variables	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	p
(1)Température L+Q	0,091650	2	0,045825	7,47020	0,014790
(2)Energie de sonication L+Q	0,156405	2	0,078202	12,74823	0,003254
(3)Temps de sonication L+Q	0,072182	2	0,036091	5,88338	0,026830
Erreur	0,049075	8	0,006134		
Total somme des carrés	0,364373	14			

Le modèle est significatif vu que la valeur de F est élevée et la valeur de p inférieure à 0,05. L'effet de chaque paramètre sur le modèle est montré sur le diagramme de Pareto (Figure 21).

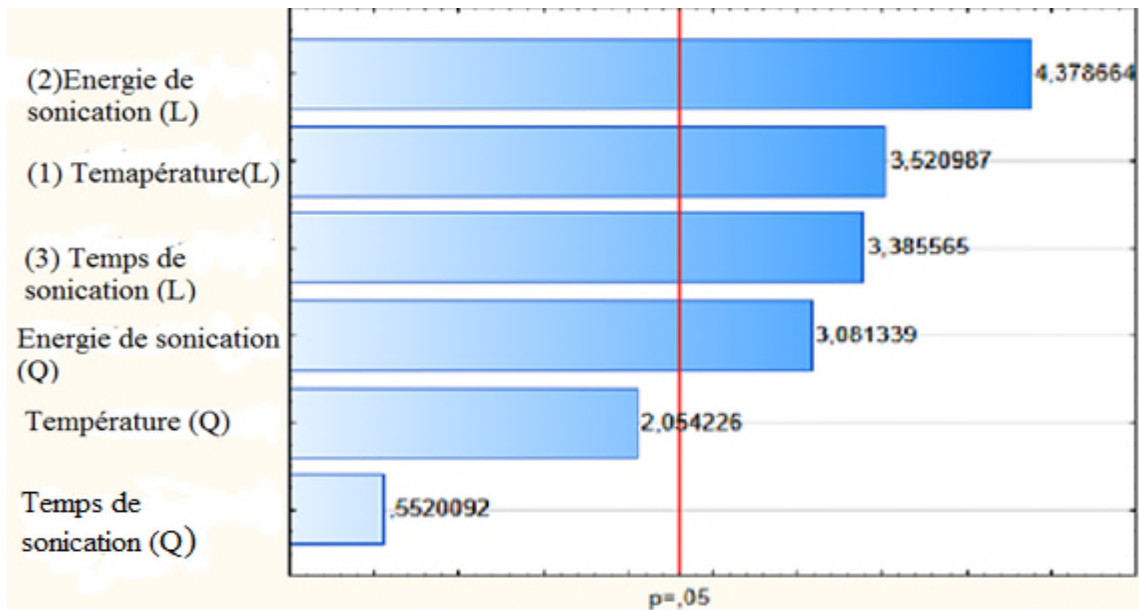


Figure 21. Diagramme de Pareto des effets pour la capacité de rétention d'huile.

Nous remarquons que les effets linéaires des trois paramètres sont significatifs avec, cependant un effet plus significatif de l'énergie de sonication, suivi de la température et du temps de sonication. En terme quadratique, le seul effet significatif est l'énergie de sonication. Le coefficient de détermination du modèle (R^2) est de 0,83 attestant que le modèle est significatif. La différence entre les valeurs observées et prévues est minime comme le montre la Figure 23.

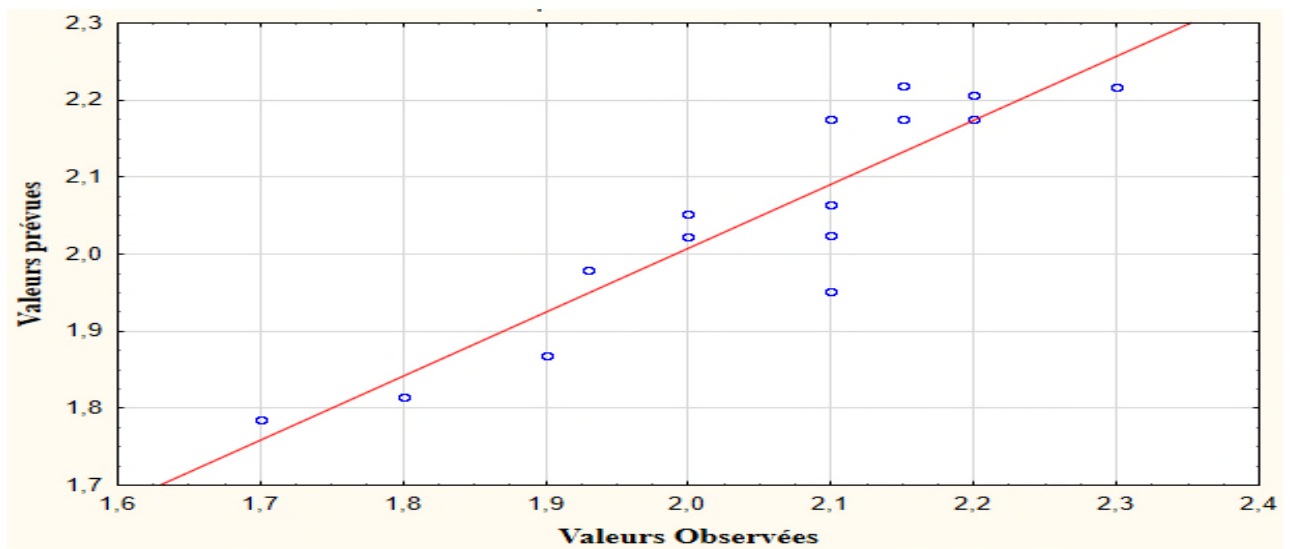


Figure 22.Valeurs observées (petits cercles) et valeurs prévues (ligne droite) de la capacité de rétention de l'huile.

Le Tableau 17 de l'estimation des effets a été utilisé pour déterminer l'équation polynomiale du second ordre représentant la capacité de rétention de l'huile en fonction des trois variables.

Cette équation se présente comme suit :

$$Y = 2,04 + 0,20(T) + 0,24(ES) + 0,13(ES)^2 + 0,19(TS)$$

Où

T = Température en °C.

ES= Energie de sonication en %.

TS= Temps de sonication en min.

Les coefficients d'estimation indiquent l'effet significatif de la température et de l'Energie de sonication. Le temps et les effets entre paramètres restent sans effet. Par contre, une augmentation simultanée de la température et de l'énergie de sonication augmentent la capacité de rétention d'huile en terme linéaire.

Tableau 17. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.

	Effect	Erreur standard.	t(8)	p	-95, % - Cnf.L imt	+95, % - Cnf.Li mt	Coeff.	Std.Err. - Coeff.	-95, % - Cnf.Limt	+95, % - Cnf.Limt
Mean/Interc.	2,04	0,02	89,54	-	1,99	2,09	2,04	0,02	1,99	2,09
(1)Température (L)	0,20	0,06	3,52	0,01	0,07	0,32	0,10	0,03	0,03	0,16
Température (Q)	0,08	0,04	2,05	0,07	0,01	0,18	0,04	0,02	0,01	0,09
(2)Energie de sonication(L)	0,24	0,06	4,38	0,00	0,11	0,37	0,12	0,03	0,06	0,19
Energie de sonication(Q)	0,13	0,04	3,08	0,02	0,03	0,22	0,06	0,02	0,02	0,11
(3)Temps de sonication(L)	0,19	0,06	3,39	0,01	0,06	0,32	0,09	0,03	0,03	0,16
Temps de sonication(Q)	0,02	0,04	0,55	0,60	0,07	0,12	0,01	0,02	0,04	0,06

III.1.2.2 Analyse des surfaces de réponse.

La Figure 23 nous donne les courbes de surface de réponse à trois dimensions, l'objectif est d'étudier l'effet combiné des différents paramètres par la variation de deux paramètres, le troisième reste maintenu à son niveau central.

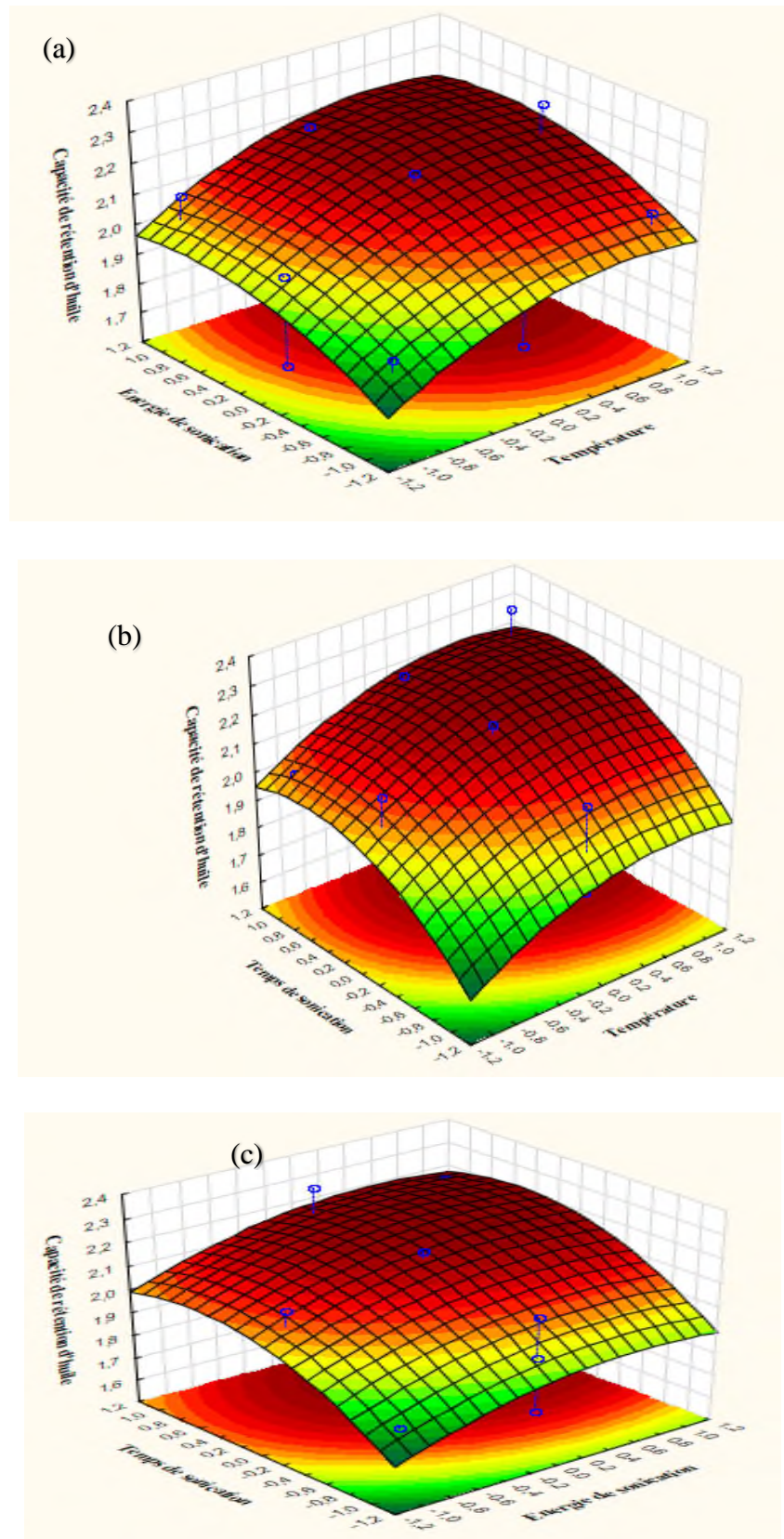


Figure 23 .Surfaces de réponse 3D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline en fonction (a) de la température et de l'énergie de sonication, (b) de la température et du temps de sonication, (c) du temps et de l'énergie de sonication.

Nous observons, donc, un effet quadratique et linéaire de la température et du temps de sonication. Une augmentation de la capacité de rétention d'huile est constatée suite à l'augmentation de ces deux paramètres (Figure 23 (a)). Sur la Figure 23 (b), nous remarquons l'effet linéaire du temps de sonication dont l'augmentation provoque une augmentation de la capacité de rétention d'huile. Par contre, l'énergie de sonication est significative en terme quadratique et linéaire, tandis que le temps de sonication n'est significatif qu'en terme linéaire (Figure 23 (c)).

III.1.2.3 Résultats du modèle.

Le Tableau 18 nous donne la capacité de rétention d'huile en fonction des différentes combinaisons. La capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline varie entre 2,3 ml H₂O / g poudre de spiruline. Ces résultats sont légèrement supérieurs au résultat obtenu par Devi et Venkataraman (1984), à savoir (1,9 g/g), résultat obtenu sans traitement préalable aux ultrasons (Devi et Venkataraman, 1984). Par contre, ce résultat est inférieur à celui de l'isolat protéique de spiruline (Benelhadj *et al.*, 2016) et de soja (Zhu *et al.*, 2010), tandis que notre résultat est supérieur à la poudre de soja (Devi et Venkataraman, 1984).

Pour l'isolat protéique de l'algue *Kappaphycus*, qui contient 62% de protéines, la capacité de rétention d'huile (1,29g/g H₂O) est bien inférieure à celui de la poudre de spiruline (Suresh Kumar *et al.*, 2014). Par ailleurs, la capacité de rétention d'huile du concentré de protéines du fenugrec, qui contient 28% de protéines, est de 1,56 ml /g H₂O (El Nasri et El Tinay, 2007).

D'une manière générale, la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline préalablement traitée aux ultrasons demeure acceptable en comparaison avec d'autres isolats protéiques à l'instar du riz, entre 1,32 g H₂O et 2,14 g/g H₂O (Zhao *et al.*, 2012), 1,32 g/g H₂O et 2,4 g/g H₂O pour le germe de blé (Shad *et al.*, 2013).

La teneur élevée en protéines de la spiruline explique cette différence, les groupes hydrophobes des protéines augmentent avec, comme résultat, plus de complexes huile-protéines sont générés (Du *et al.*, 2014). Cette approche est confirmée par l'étude portant sur plusieurs farines de légumineuses entières où, pour des teneurs en protéines comprises entre 22% et 28%, la capacité de rétention d'huile varie entre 0,93 g H₂O / g de farine de légumes et 1,38 g H₂O / g de farine de légumes (Jiang *et al.*, 2014).

En prenant en considération la capacité de rétention d'huile de la farine de soja (56 % de protéines) qui est de 0,84 g/ g H₂O (Kinsella, 1979) , la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline est satisfaisante et , en conséquence, peut être utilisée dans l'industrie agroalimentaire.

Tableau 18. Capacité de rétention d'huile en fonction des différentes combinaisons.

Essais	Température (°C)	Temps de sonication (min)	Energie de sonication (%)	Capacité de rétention d'huile
1	0	0	0	2,1
2	0	0	0	2,2
3	1	0	1	2,15
4	1	0	-1	2,1
5	-1	-1	0	1,7
6	-1	1	0	2
7	1	1	0	2,3
8	0	-1	-1	1,8
9	0	0	0	2,15
10	-1	0	1	2,1
11	1	-1	0	1,93
12	0	1	1	2,2
13	0	-1	0	2,1
14	0	1	-1	2
15	-1	0	-1	1,9

III.1.2.4 Optimisation de la capacité de rétention d'huile.

Le but de ce chapitre est de déterminer les conditions optimales de la capacité de rétention d'eau. Etant donné que le modèle mathématique est valide, nous avons réalisé les tracés de contour en 2D afin de trouver la solution optimale. Ainsi, deux facteurs sont maintenus à leur niveau central, le troisième facteur varie de sa valeur minimale, puis centrale ensuite maximale. La réponse optimale est visible sur la région la plus foncée de la courbe. Donc, nous pouvons déterminer la valeur de chaque facteur donnant la réponse optimale à partir du graphique (Bouzaouit et Bidjou-Haiour, 2015). Sur plusieurs courbes, nous pouvons constater

l'obtention d'une capacité de rétention d'huile supérieure à 2,3 g d'eau/g de poudre de spiruline, d'où les valeurs optimales peuvent être déterminées.

Sur la Figure 25, nous remarquons que l'effet combiné du pH et du temps de sonication à leur niveau maximal donnent un résultat supérieur aux valeurs expérimentales. Donc, on peut déterminer les valeurs des paramètres relatifs à ce résultat.

Sur la Figure 26, nous remarquons que l'effet combiné du pH et du temps de sonication à leur niveau central donne un résultat supérieur aux valeurs expérimentales. Donc, on peut déterminer les valeurs des paramètres relatifs à ce résultat.

Sur la Figure 27, nous remarquons que le maintien du troisième paramètre à son niveau minimal donne des résultats inférieurs à la valeur optimale expérimentale. En conséquence, on ne peut pas retenir de valeurs à ce niveau.

En conséquence, les valeurs optimales non codées sont les suivantes :

Température : 45 °C.

Energie de sonication : 65%

Temps de sonication : 16 min

La fonction de désirabilité a donné un taux optimal de la capacité de rétention d'huile eau de 2,34 ml d'eau/ g de poudre de spiruline. Ce résultat n'a pas été obtenu dans les 15 expériences du Box-Benhken Design. La Figure 27 montre le profil de désirabilité réalisée avec la méthode quadratique, nous remarquons que cette valeur se situe dans l'espace de confiance pour les trois variables, et que la désirabilité est proche de 1 prouvant ainsi que le modèle est adéquat.(Candiotti *et al.*, 2014). Cette valeur a été obtenue lorsque les trois variables sont proches de leur niveau maximal. Cette tendance est confirmée par le tableau des valeurs de désirabilité Tableau 19 en fonction des niveaux de chaque paramètre.

III.1.2.4.1. Température

L'influence de la température sur la capacité de rétention d'huile est visible. Son augmentation est proportionnelle au score de désirabilité comme le montre la Figure 27 (a) ; ce dernier est à son maximum au niveau maximal de la température, entre 45°C et 50°C.

III.1.2.4.2. Energie de sonication

Le meilleur score de désirabilité est obtenu quand l'énergie de sonication est de 65%. L'énergie de sonication reste influente, le score de désirabilité est à son maximum à une énergie de sonication supérieure à 50% comme le montre la Figure 27(b).

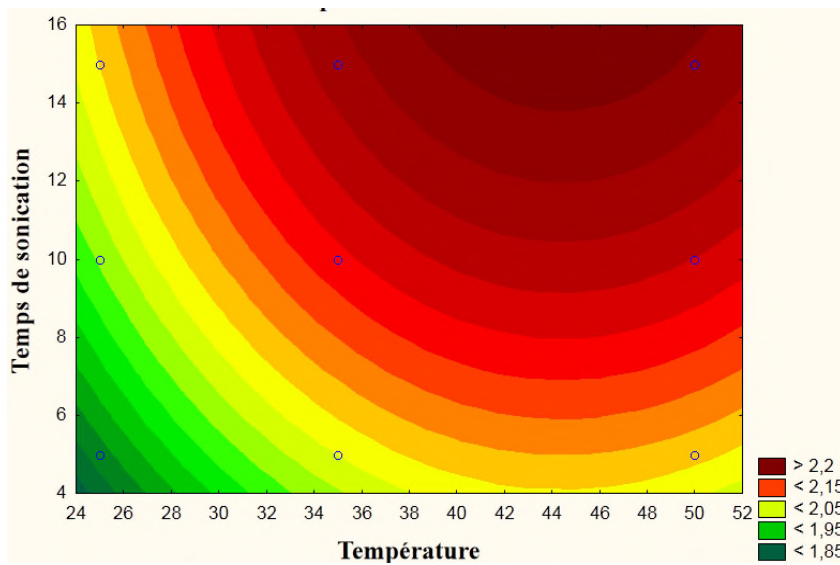
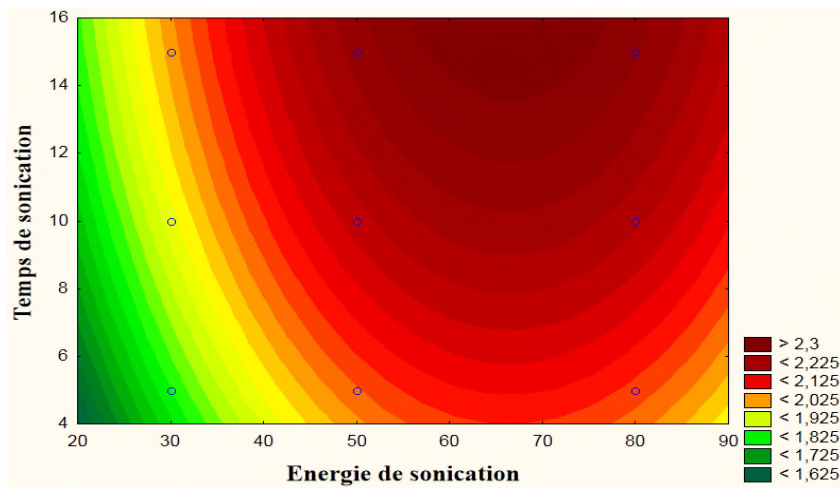
III.1.2.4.3 Temps de sonication

Le score de désirabilité est proportionnel à l'augmentation du temps de sonication. Il est à son niveau maximal entre 15 et 16 min. En deçà de ces valeurs, nous observons une courbe ascendante montrant ainsi l'influence graduelle du temps de sonication sur le score de désirabilité (Figure 27©).

Nous pouvons aussi vérifier le résultat de la fonction de désirabilité en calculant la capacité de rétention d'eau à partir de l'équation ci-dessous en introduisant les valeurs des paramètres retenues à partir des graphes de contour 2D.

$$Y = 2,04 + 0,20(T) + 0,24(ES) + 0,13(ES)^2 + 0,19(TS).$$

Le résultat obtenu est de 2,43, résultat supérieur au résultat expérimental maximal, confirmant ainsi le résultat obtenu par la fonction de désirabilité.



Valeurs retenues :

Température : 45°C.

Temps de sonication : 16 min

Energie de sonication : 65%

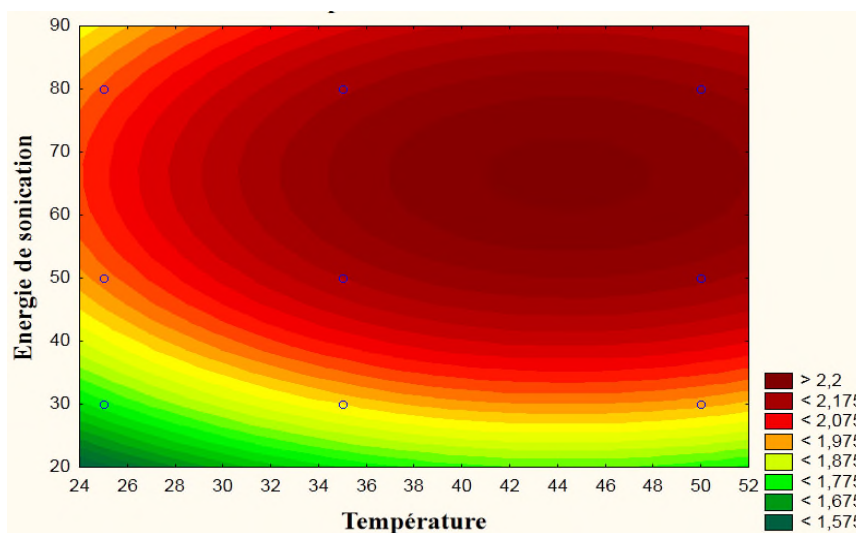
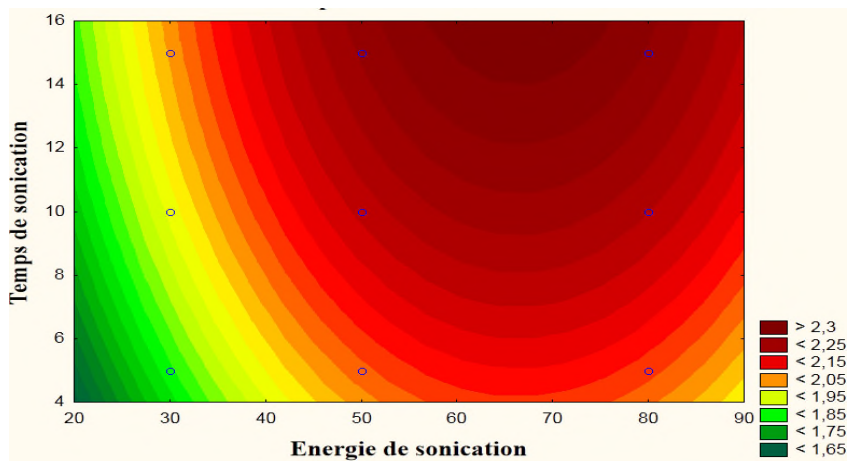
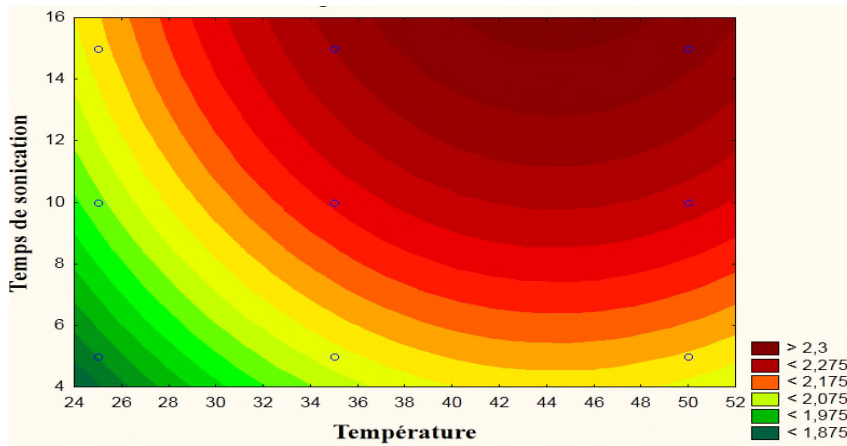


Figure 24. Tracé de contour 2D De la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central.



Valeurs retenues :
 Température : 45°C.
 Temps de sonication : 16 min
 Energie de sonication : 65%

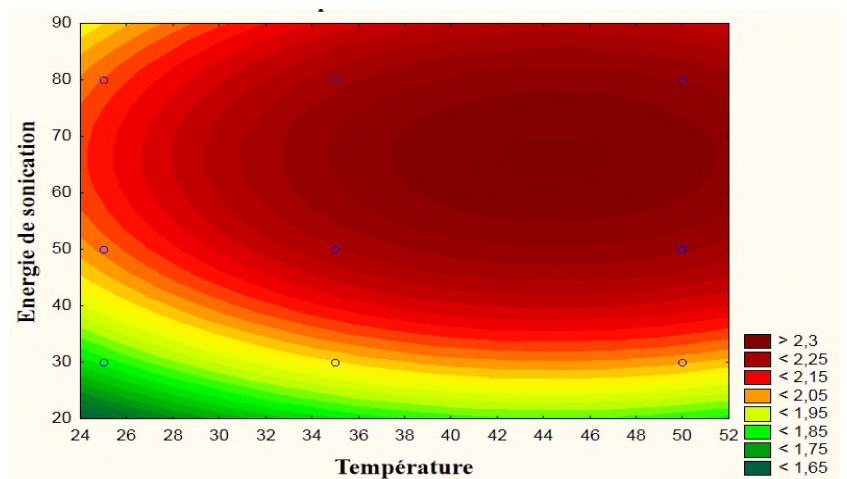
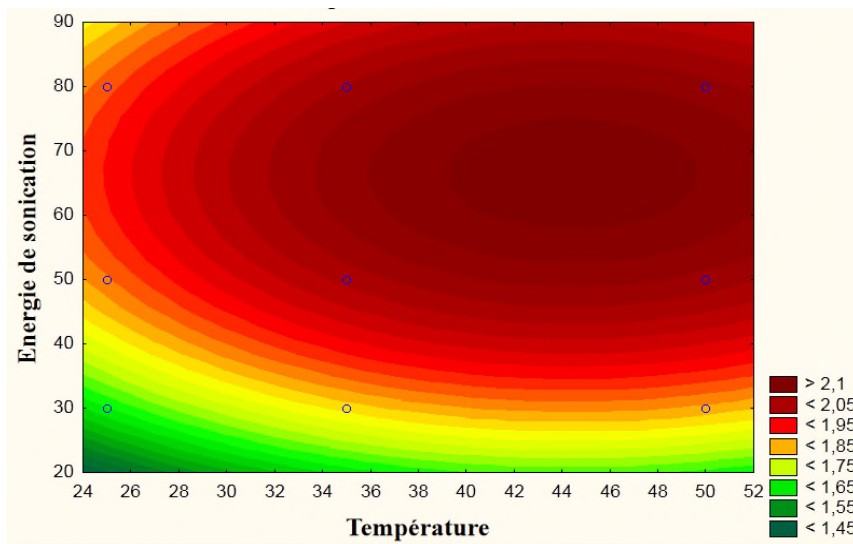
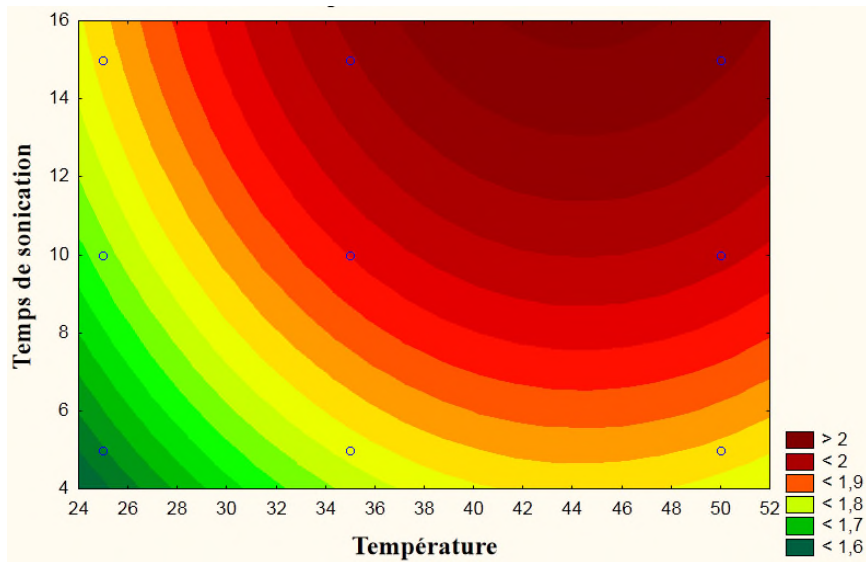


Figure 25. Tracé de contour 2D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximum.



Valeurs retenues :
Aucune valeur retenue, les résultats sont inférieurs aux valeurs expérimentales.

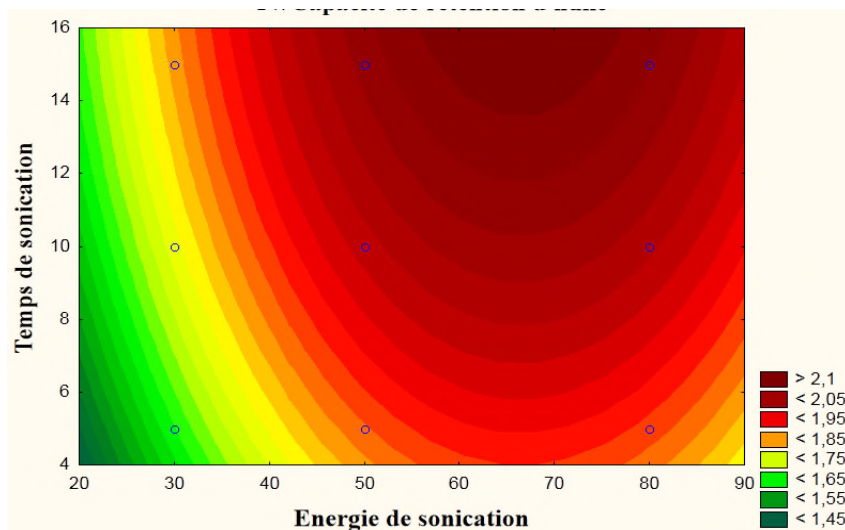


Figure 26. Tracé de contour 2D de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau minimum.

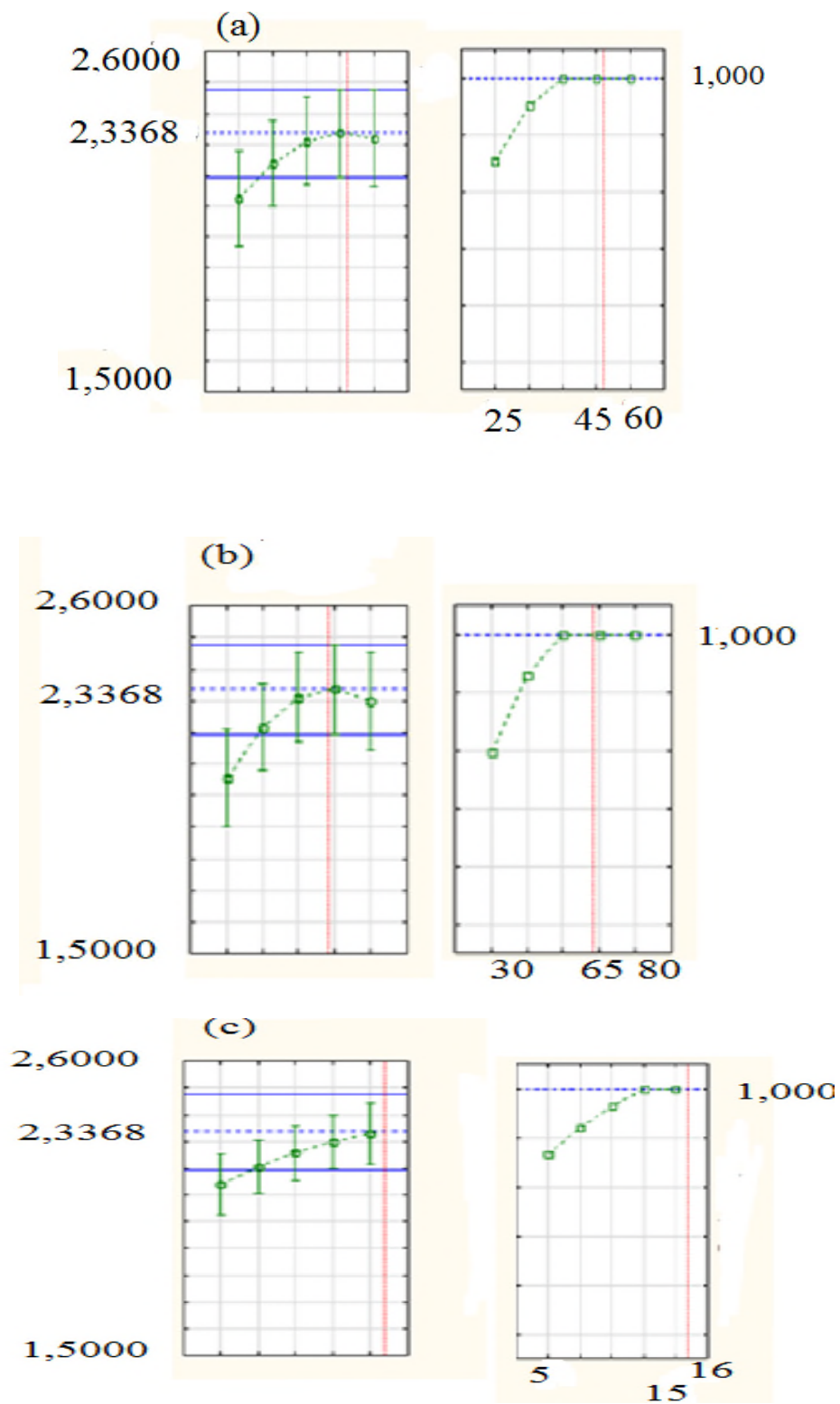


Figure 27. Profil de désirabilité de la capacité de rétention d'huile, (a) température, (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication

Tableau 19. Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse de la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline.

Variabes	Capacité de rétention d'huile prévue	Valeur de désirabilité
Température	2,12	0,71
Température	2,24	0,90
Température	2,31	1,00
Température	2,34	1,00
Température	2,32	1,00
Energie de sonication	2,06	0,59
Energie de sonication	2,22	0,86
Energie de sonication	2,31	1,00
Energie de sonication	2,34	1,00
Energie de sonication	2,30	1,00
Temps de sonication	2,14	0,73
Temps de sonication	2,20	0,84
Temps de sonication	2,26	0,93
Temps de sonication	2,30	1,00
Temps de sonication	2,33	1,00

III.2. Isothermes de sorption de la poudre de spiruline.

Les valeurs expérimentales pour chaque activité de l'eau et teneur en eau à l'équilibre pour des températures de 25°C et de 40°C sont présentées sur la Figure 28. Ces valeurs représentant la valeur moyenne de trois échantillons montrent une dépendance en fonction de la température. Elles sont montrées sur la Figure 28. La teneur en eau à l'équilibre est proportionnelle à la température, une augmentation moyenne de 30 à 37% est constatée quand la température varie de 25°C à 40 °C. Les deux courbes des isothermes de sorption sont sigmoïdales de type II. Cette forme est typique des produits alimentaires ou deux flexions sont notées sur la courbe. La première une activité de l'eau à entre 0,2 et 0,4 qui correspond au début de la formation de la multicouche et le remplissage des petits pores tandis que la seconde, qui se situe à une activité

de l'eau entre 0,6 et 0,7, correspond au remplissage des grands pores et la dissolution des solutés (Huppertz, 2019).

La forme sigmoïdale obtenue est conforme aux recherches menées sur les produits alimentaires où, à température constante, une augmentation de l'activité de l'eau correspond à une augmentation de la teneur en eau à l'équilibre (Varghese *et al.*, 2014).

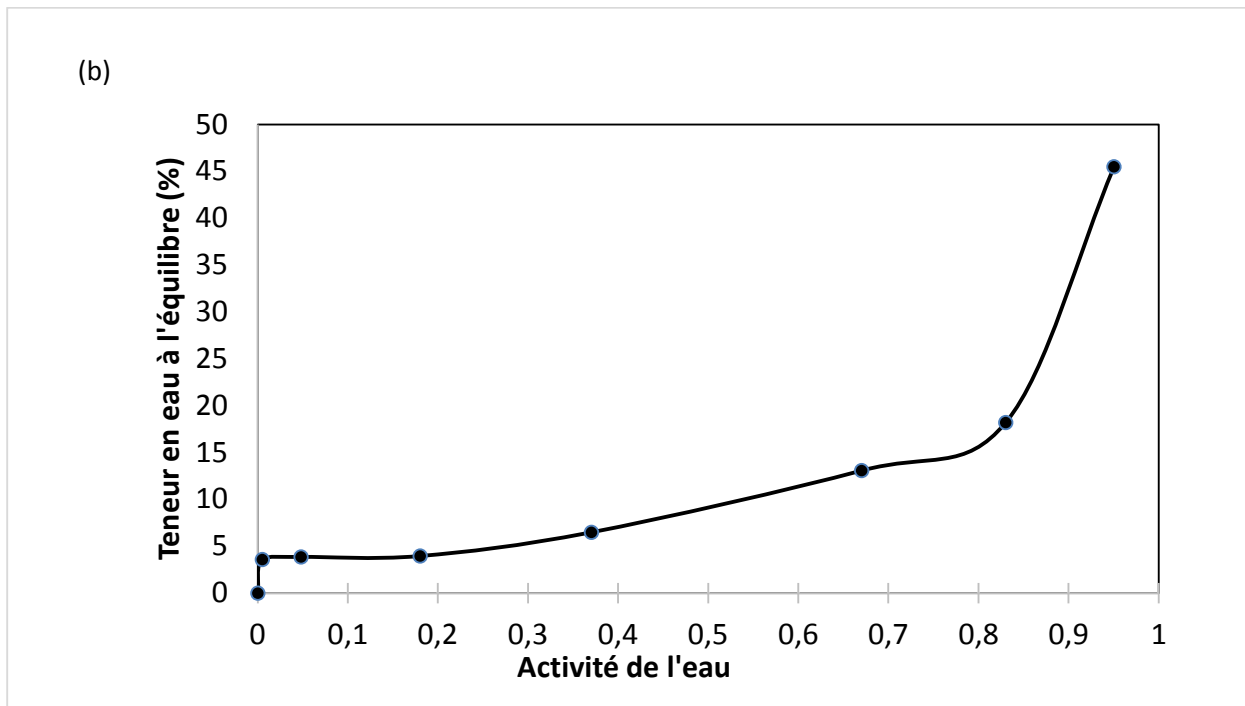
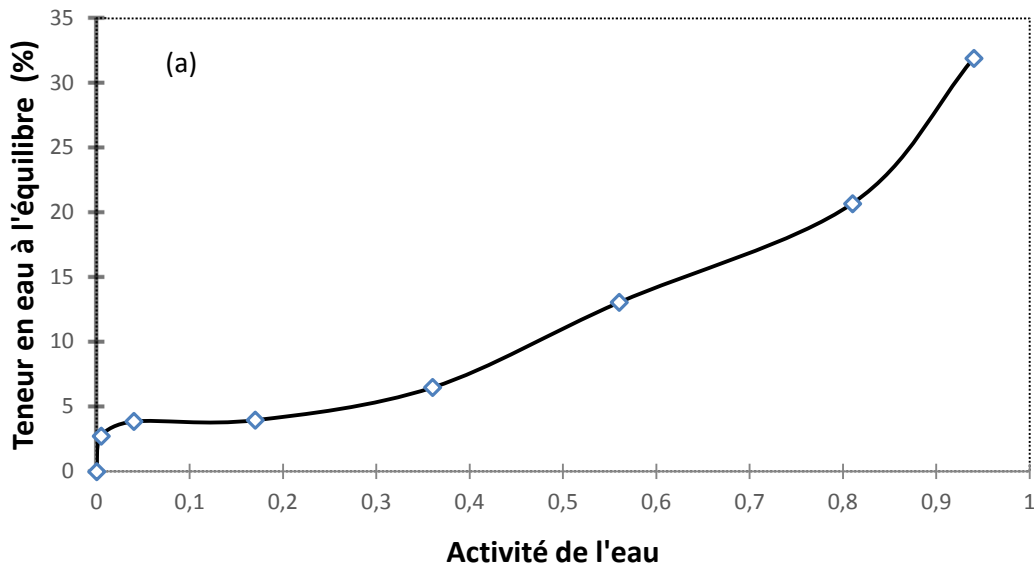


Figure 28. Isotherme de sorption de la poudre de spiruline à 25°C (a) et 40°C(b).

Les études menées sur des poudres alimentaires riches en protéines montrent aussi une forme sigmoïdale, comme le cas de la poudre de lactosérum où l'auteur explique ce phénomène par une absorption rapide de l'eau par capillarité et par les interactions à la surface de l'eau (**Varghese et al.**, 2014).

Cette forme sigmoïdale, à l'instar de la plupart des produits alimentaires, se distingue par trois régions sur la courbe (**Fox et al.**, 2015). La première correspond à une activité de l'eau entre 0 et 0,25, qui représente la monocouche. La deuxième correspond à une activité de l'eau entre 0,3 et 0,75 elle représente la phase multimoléculaire. La troisième phase correspond à une activité de l'eau de plus de 0,8 où l'eau libre se condense sur les pores de l'aliment.

Dans le cas de la poudre de spiruline, on distingue aussi ces trois régions. En effet, la région I correspond à une activité de l'eau entre 0 et 0,2. Dans cette région, l'absorption d'eau est minimale, d'où on remarque que la courbe est plate. Cette adsorption n'a aucun effet sur la structure, elle est due essentiellement à l'adsorption de surface (**Kelly et al.**, 2016) . L'absorption de l'eau est de l'ordre de 7 à 11 g d'eau par 100 g de poudre. Cette eau est fortement liée aux groupes hydrophiles et polaires des protéines et des polysaccharides. En conséquence, elle n'est pas disponible pour les réactions biochimiques (**Kuntz Jr et Kauzmann**, 1974). Le comportement de l'eau dans cette région peut être expliqué par la présence d'une eau structurée fortement liée aux sites polaires, chargés et hydrophiles des protéines. (**Huppertz**, 2019). En conséquence, les produits alimentaires à forte teneur en protéines avec une activité d'eau située dans cette région peuvent être stockés à température ambiante. Dans le cas de la spiruline, le teneur en lipides expose la poudre à l'oxydation (**Rao et al.**, 2016)

La région II correspond à une activité de l'eau entre 0,2 et 0,75, une nette augmentation est observée. Elle peut être expliquée par la dissolution des protéines et polysaccharides (**Moreira et al.**, 2015). Dans cette région, l'absorption de l'eau est linéaire et graduelle, elle est de l'ordre de 18 à 25 g d'eau par 100 g de poudre (**Kuntz Jr et Kauzmann**, 1974). Cette région comprend les molécules d'eau qui complètent la monocouche ainsi que les molécules qui, par condensation, forment progressivement des couches additionnelles sur les couches déjà existantes. L'eau y est disponible comme solvant pour les solutés à faible poids moléculaire.

C'est une région dont les propriétés sont intermédiaires entre la région I et la région III montrant une transition graduelle des propriétés (**Kinsella et al.**, 1986). C'est donc une zone de transition,

où les protéines absorbent l'eau de la multicouche moins fortement liée et une partie de l'eau capillaire retenue physiquement dans les cavités, les vides et les fentes par des liaisons hydrogène autour de l'eau structurale (**Huppertz**, 2019). Dans cette zone, les produits à forte teneur en protéines subissent un durcissement à l'instar des aliments sous forme de barres. Ce durcissement est expliqué par des changements dans la microstructure des protéines due à la migration de l'eau (**Zhu et Labuza**, 2010). Ce problème peut être réglé par l'utilisation de protéines à forte solubilité (**Huppertz**, 2019). Dans cette région et spécialement entre les valeurs d'activité de l'eau entre 0,35 et 0,45, des altérations physiques peuvent détériorer les aliments comme l'agglomération et la perte de la qualité croustillante (**Labuza et Altunakar**, 2007).

La région III correspond à une activité de l'eau supérieure à 0,75, un pic est observé sur la courbe. Ainsi, un excès d'eau est présent dans les macros capillarités pouvant agir comme un solvant (**Al-Muhtaseb et al.**, 2002). L'absorption d'eau est accélérée pouvant atteindre de 35 à 60 g d'eau par 100 g de poudre. Elle reflète une graduelle dissolution des composants de la poudre (**Kinsella et al.**, 1986). L'eau devient libre sous forme capillaire retenue dans de larges capillarités et parois, elle est faiblement liée aux protéines et se comporte comme une eau de masse (**Huppertz**, 2019).

Les produits à forte teneur en protéines dont l'activité de l'eau correspond à cette zone, comme les boissons, connaissent une forte activité microbienne pendant le stockage. Il est donc recommandé de stocker ces produits à des températures entre 4°C et 8°C (**Rao et al.**, 2016).

Dans le cas de l'utilisation de la spiruline comme complément alimentaire, les procédés galéniques recommandent l'encapsulation de la poudre de spiruline dans des gélules. Cette méthode permet non seulement de masquer le goût et l'odeur, mais aussi de protéger contre l'humidité (**Le Hir et al.**; 2016). Etant composée de gélatine ou d'un polymère permettant une protection contre l'humidité, la gélule garantit, ainsi, au consommateur une poudre de spiruline avec toute sa richesse nutritionnelle sans pour autant sentir une saveur désagréable. La Figure 29 montre des gélules de spiruline encapsulée manuellement.



Figure 29. Poudre de spiruline encapsulée en gélules.

III.2.1. Détermination de l'eau non-solvante.

La courbe des isothermes de sorption de la poudre de spiruline a été étudiée selon les travaux de Guilbot et Lindenberg, (1960) (**Guilbot et Lindenberg**, 1960) . Ces auteurs ont montré l'importance du point C sur la Figure 30 qui correspond à la fin de la partie linéaire de la courbe. La première partie de la courbe, le segment OA, entre la valeur de l'activité de l'eau 0 à 0,1 correspond à la monocouche. Sur cette partie, les molécules de l'eau sont fortement liées sur les premiers sites d'adsorption. Dans cette phase, la mobilité des molécules d'eau est très faible. En conséquence, elles ne peuvent intervenir dans les réactions biochimiques, ces molécules sont dans un état de phase solide intégrale. La poudre de spiruline est stable, ne subit pas de réaction de détérioration comme le brunissement de Maillard, les réactions enzymatiques et l'oxydation des lipides (**Heiss**, 1968).

La deuxième partie de la courbe, le segment AC, entre l'activité de l'eau 0,2 et 0,4 correspond à la multicouche, les molécules d'eau sont retenues par des liaisons plus ou moins fortes, leur mobilité reste faible, d'où une intervention limitée dans les réactions biochimiques. Dans cette région, les conditions de stockage et de stabilité de la qualité sont optimales (**Heiss**, 1968).

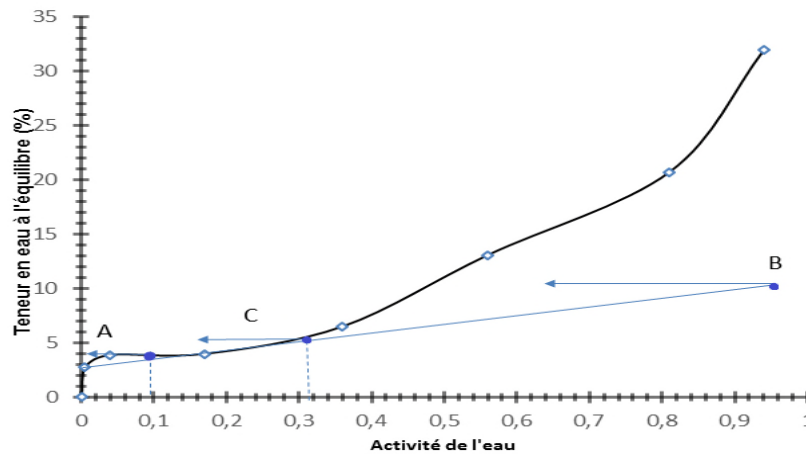


Figure 30. Détermination des conditions optimales de stockage à partir de la courbe des isothermes de sorption de la poudre de spiruline à 25°C.

A partir du point C apparaît la troisième phase qui correspond à l'eau solvante. La teneur en eau de la poudre est en équilibre avec son environnement et devient susceptible à la détérioration (Heiss, 1968). Par la projection des points A, C et B sur l'axe des ordonnées, on obtient des valeurs respectives de 4,6 et 12, correspondant à la couche mono moléculaire, le début de l'eau solvante et le maximum de l'eau non solvante. Aussi, le segment sur la courbe allant de l'activité de l'eau 0,06 à 0,45 correspond sur l'axe des abscisses à une valeur de 0,032 g H₂O/g spiruline poudre. L'équation décrivant cette droite est :

$$M = 0,105 a_w + 0,032$$

De cette équation, on peut déduire qu'à une valeur maximale de l'activité de l'eau (1) correspond la valeur maximale de l'eau non solvante, 0,135 g.

En tenant compte des résultats reportés par les mêmes auteurs, et en se basant sur les observations sur la courbe, on peut dire que l'eau non solvante peut être composée de l'adsorption primaire (monocouche) et de l'adsorption sous forme de solution solide dans les macromolécules (multicouche). Le concept de solution solide a aussi rapporté par Hill (1952) qui a considéré que l'adsorbant et les particules adsorbées constituent une phase indépendante ayant les propriétés d'une solution (Hill, 1952).

Par ailleurs, les deux sections (OA) et (AC) de la courbe sont équivalentes à l'équation de BET qui couvre la partie expérimentale de l'activité de l'eau entre 0 et 0,5. En utilisant la régression

non linéaire, la valeur de X_m calculée à partir de l'équation de BET est de 4,42% avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,98.

Le point C sur la courbe sigmoïdale indique la région optimale de stockage, car, à une activité de l'eau en deçà, la spiruline est exposée à l'oxydation. Par ailleurs, pour une activité de l'eau supérieure, la spiruline subit des réactions biochimiques, microbiennes et enzymatiques (Kinsella et Melachouris, 1976). En conséquence, les conditions optimales pour le stockage de la spiruline en poudre sont de 6% pour le taux d'humidité et 0,33 pour l'activité de l'eau.

III.2.2. Effet de la température.

Les produits alimentaires subissent des changements de température pendant le stockage et le processus de production. En général, si l'activité de l'eau est constante, l'augmentation de la température provoque une diminution de la teneur en eau (Al-Muhtaseb *et al.*, 2002). Cependant, certains auteurs ont noté une déviation de cette règle. En effet, pour une augmentation de la température provoque une augmentation de la teneur en eau au-delà du seuil de 0,7 pour l'activité de l'eau (Vasquez *et al.*, 2011).

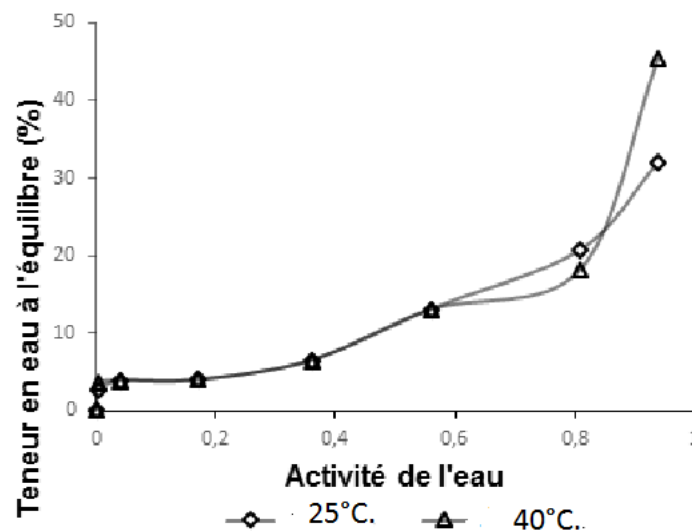


Figure 31. Effet de la température sur les isothermes de sorption pour la poudre de spiruline à 25°C et 40°C.

Nous remarquons aussi sur la Figure 31 que les des deux courbes sont très proches, ce n'est qu'à une activité de l'eau supérieure à 0,7 que les courbes se séparent. Labuza Altunakar (2007) ont noté que les aliments dont la courbe des isothermes est de type II absorbent moins d'eau quand l'activité de l'eau est élevée. En plus, avec l'augmentation simultanée de la

température et de l'activité de l'eau, des solutés peuvent se dissoudre et causer un croisement (**Labuza et Altunakar**, 2007).

Cette tendance a été observée dans le cas des aliments riches en sucre comme les dattes à une activité de l'eau supérieure à 0.8 (**Ferradji et Matallah**, 2012) , pour la pectine à une activité de l'eau supérieure à 0.6 (**Basu et al.**, 2013), pour les graines de soja à une activité de l'eau entre 0.6 et 0.9, l'étude dans ce cas a été réalisée à trois différentes températures (**Yang et al.**, 2015). La même tendance est observée pour la farine de taro ou les deux courbes se séparent à une activité de l'eau supérieure à 0.6 (**Nurtama et Lin**, 2010).

D'autres auteurs ont aussi noté cette tendance comme pour un mélange lait-millet (**Simha et al.**, 2016), farine d'avoine (**Sandoval et al.**, 2011), et pour les protéines hydrolysées du petit lait (**Zhou et Labuza**, 2007). Les aliments ayant montré cette tendance sont en général riches en protéines et/ou en polysaccharides. L'explication serait dans la dissolution de ces deux composants dans l'eau quand la température augmente, réduisant ainsi le nombre de sites polaires auxquelles les molécules d'eau sont liées (**Basu et al.**, 2013). Il en est de même pour l'algue brune *Bifurcaria bifurcata*, l'auteur explique aussi cette tendance par la dissolution des polysaccharides et des protéines présentes dans l'algue (**Moreira et al.**, 2015). Il en est de même pour les protéines de soja composées de 50% et 20% de sucres où les deux courbes se croisent à une activité de l'eau de 0,9 (**Cassini et al.**, 2006).

Dans ce contexte, **Berlin et al.** (1973) ont rapporté qu'à une pression relative plus élevée, l'eau était adsorbée par de petites molécules et formait une solution concentrée. Ces auteurs ont conclu qu'un gramme de protéines lie environ 0,5 g d'eau et que la dénaturation a un faible effet sur la quantité d'eau absorbée (**Berlin et al.**, 1973).

III.2.3. Modélisation des isothermes de sorption.

Dans le but de prévoir le comportement de la poudre de spiruline, les données obtenues à partir des isothermes de sorption ont fait l'objet d'une modélisation mathématique par l'équation de GAB afin de déterminer la valeur X_m , paramètre important dans le stockage, elle traduit la capacité de sorption de l'adsorbant indiquant la disponibilité des sites polaires pour les liaisons eau vapeur (**Chirife et Iglesias**, 1978)

Le Tableau 20 donne les résultats de l'équation de GAB à 3 paramètres pour les isothermes de sorption de la poudre de spiruline.

Tableau 20. Résultats de l'équation de GAB à 3 paramètres.

	Xm	C	K	R ²
25°C	6,06	31,97	0.86	0,98
40°C	3.94	1713,52	0.96	0,99

La valeur R² est respectivement de 0,98 et 0,99 respectivement à 25°C et 40°C, montrant, ainsi, une fiabilité des résultats. Les valeurs de Xm pour les mêmes températures sont de 6,06 et 3,94 indiquant une stabilité au stockage puisqu'elles sont bien inférieures à 10 (Labuza, 1984). Ces valeurs de Xm sont similaires aux valeurs obtenues pour d'autres poudres alimentaires comme la farine d'avoine, respectivement 4,7 et 4.8 aux mêmes températures (Sandoval *et al.*, 2011) et le thé Oolong dont la valeur est 4.08 à 25°C (Chen et Weng, 2008). Cependant, la valeur Xm est inférieure à d'autres poudres alimentaires comme la poudre du palmier grugru (Oliveira *et al.*, 2014), la poudre de taro (Nurtama et Lin, 2010), et le condiment wadi (Rakshit *et al.*, 2014). Pour le boulghour, considéré comme aliment fonctionnel à base de blé gélatinisé, les valeurs de Xm sont respectivement de 5.01, 3.69 et 2.55 à 20°C, 30°C et 40°C (Erbas *et al.*, 2016). Pour les poudres d'algue, une étude sur l'algue rouge Bifurcaria montre des résultats du même niveau que la spiruline, 5.5 à 25°C et 4.7 à 40°C (Moreira *et al.*, 2015) résultats obtenus avec l'équation de BET qui, généralement donne des résultats supérieurs que l'équation de GAB (Timmermann *et al.*, 2001). Pour un produit riche en protéines comme le mélange poudre de lait et millet (23.5%) très consommé en Inde, les valeurs de Xm étaient de 3.284 à 25°C et 2.638 à 40°C, ces valeurs inférieures à ceux du sucre la poudre de spiruline sont expliquées par le fort taux de sucres totaux (49.5%) présent dans cet aliment (Simha *et al.*, 2016).

III.2.3.1 Ajustement des valeurs expérimentales au modèle GAB.

La Figure 32 montre les valeurs expérimentales et prévues du modèle GAB. Ces valeurs doivent être évalués pas des indices statistiques comme le coefficient de détermination R², erreur quadratique moyenne RMS et la différence relative moyenne MRD.

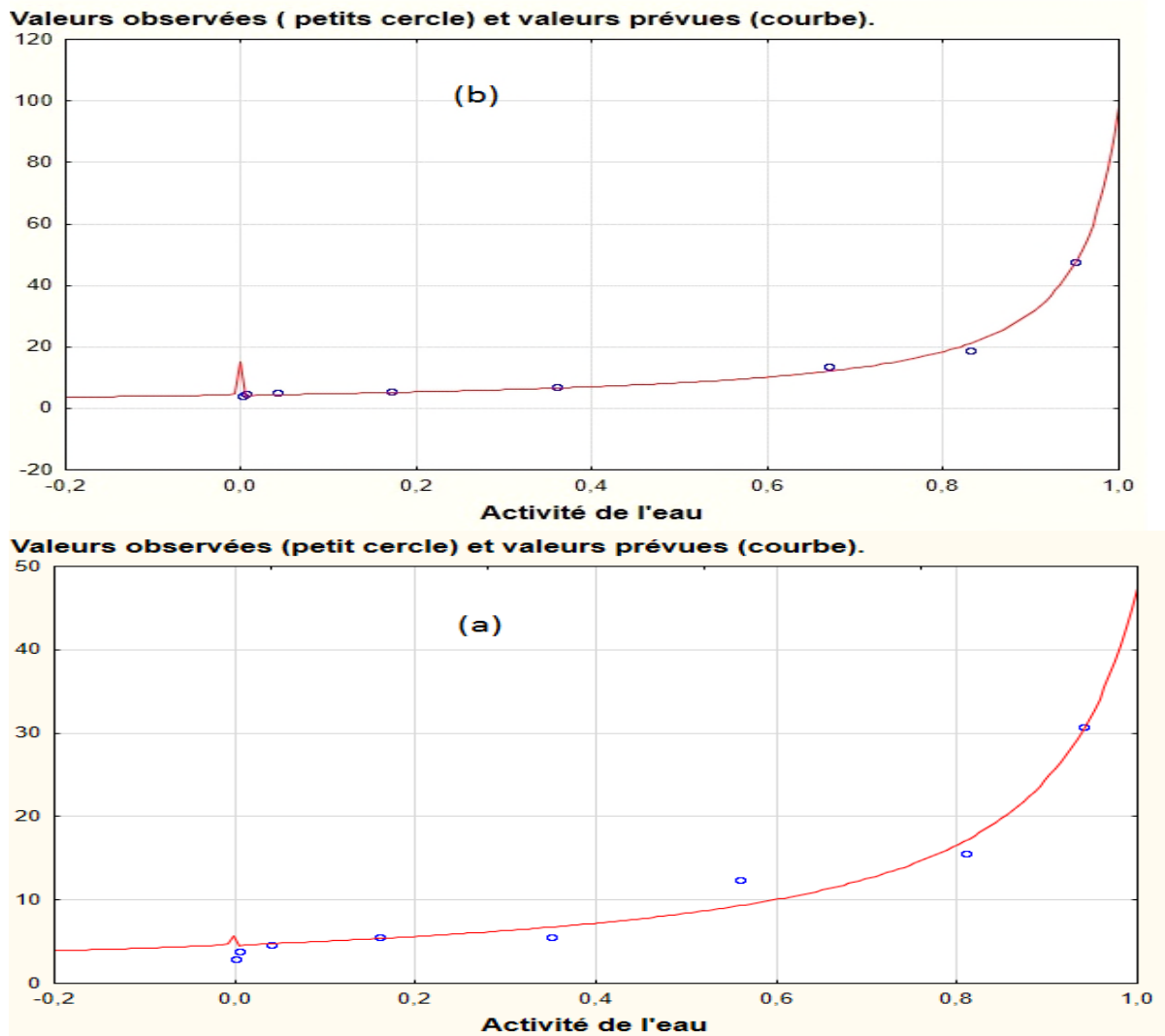


Figure 32. Les teneurs en eau observées et prévues selon le modèle de GAB à 25°C (a) et 40°C (b).

Les résultats des calculs de ces indices sont montrés sur le Tableau 22.

Tableau 21. Valeurs des indices statistiques pour l'évaluation du modèle GAB.

Température	R ²	RMSE	MRD
25°C	0,98	0,984	0,1
40°C	0,994	8.78	0,077

D'après ces calculs, les résultats du modèle GAB sont fiables, la valeur de R^2 est proche de 1 pour les deux températures, les valeurs de RMSE sont inférieures à 10, et les valeurs de MRD inférieures à 1.

Ces valeurs sont similaires aux valeurs des auteurs ayant évalué le modèle GAB par ces mêmes indices. Les valeurs de MRSE varient de 1 à 4 pour la poudre de Tamarin (**Muzaffar et Kumar**, 2016), de 0.8 pour le soja vert (**Yang et al.**, 2015). Concernant l'indice MRD, il varie de 0.016 à 0.0040 pour l'isolat protéique de soja (**Jovanovich et al.**, 2003).

III.2.3.2 Valeurs thermodynamiques selon le modèle GAB à 5 paramètres.

Le Tableau 23 nous donne les valeurs de l'équation de GAB à 5 paramètres. Les valeurs de R^2 sont de 0.99 montrant que le modèle est fiable. Les valeurs de ΔH_1 sont respectivement de 6,86 kJ/mole et 27,34 kJ/mol, ces valeurs représentent la chaleur de sorption de la monocouche, elles sont positives parce que les liaisons entre l'eau adsorbée et les sites primaires à la surface du produit. D'un autre côté, les valeurs négatives de ΔH_2 indiquent que les molécules d'eau sont moins fortement liées à la multicouche (**Martinez-Monteagudo et Salais-Fierro**, 2014).

Tableau 22. Résultats de l'équation GAB à 5 paramètres.

Température (°C)	Xm	C	ΔH_1	K	ΔH_2	R^2
25	6,06	31,88	6,86	0,87	-15,74	0,99
40	3.94	1693,8	27,34	0,98	-52,59	0,99

III.2.4. La chaleur iso stérique de sorption.

La chaleur iso stérique nette de sorption est la quantité d'énergie par laquelle la chaleur de vaporisation de l'humidité dans un produit dépasse la chaleur latente de l'eau pure (**Toğrul et Arslan**, 2007), elle peut être utilisée pour estimer les besoins en énergie pour le processus de déshydratation, elle fournit des informations importantes sur l'état de l'eau dans les produits alimentaires (**Yazdani et al.**, 2006). L'état de l'eau adsorbée est une mesure de la stabilité physique, chimique et microbienne du matériel biologique entreposé (**Al-Muhtaseb et al.**, 2004b).

Aux taux d'humidité moins de 20%, la chaleur iso stérique de sorption nette est de 60 kJ/mol (Figure 33). Cependant, quand le taux d'humidité dépasse 20%, la chaleur iso stérique tend vers 0. Ce résultat est similaire à celui de Oliveira et al, 2009 pour la spiruline (Oliveira *et al.*, 2009b), ainsi que pour l'isolat de niébé plante proche du haricot cultivée en Afrique de l'ouest (Ayranci et Duman, 2005), et de l'isolat de la graine de coton (Tunç et Duman, 2007). Quand la teneur en humidité augmente, la force de la liaison des molécules d'eau diminue, et en conséquence la chaleur iso stérique de sorption diminue aussi (Moreira *et al.*, 2015).

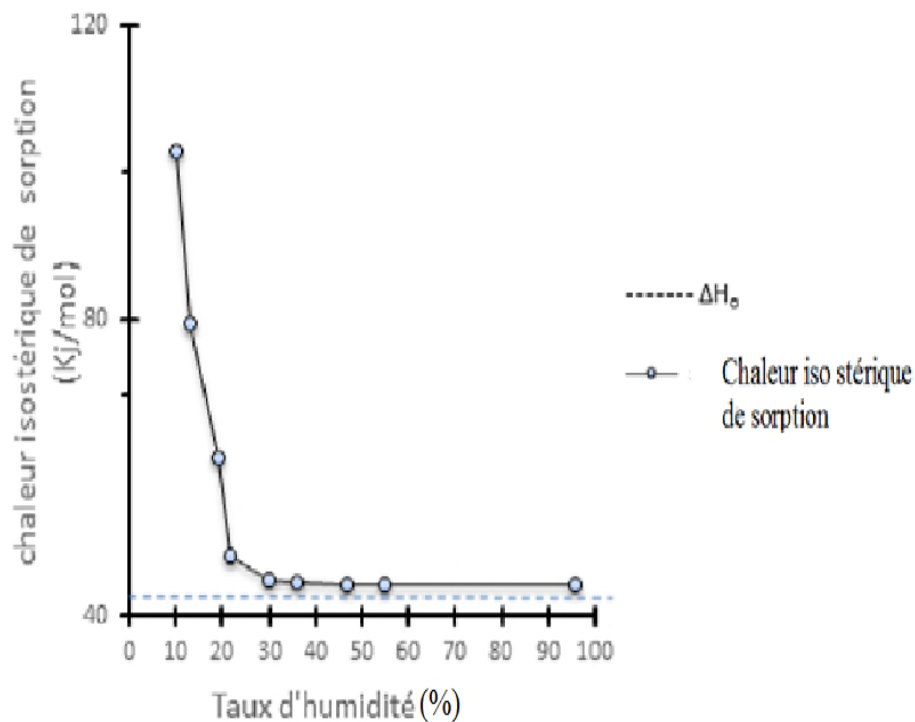


Figure 33. Chaleur iso stérique nette de sorption de la spiruline.

III.3. Optimisation de l'extraction des protéines.

III.3.1 Ajustement du modèle.

L'effet des trois paramètres d'extraction a été déterminé par le Box-Benhken Design. L'analyse ANOVA (Tableau 23) a été utilisée pour évaluer le modèle quadratique de l'optimisation de l'extraction des protéines en fonction des trois paramètres choisis : Ratio solide liquide, temps

de sonication et énergie de sonication. L'influence des trois paramètres est significative au vu de la valeur de p inférieure à 0,05 et la valeur élevée de F.

Sur le diagramme de Pareto (Figure 34) montrant l'effet de chaque paramètre sur le modèle, l'effet, en terme linéaire, du ratio solide-liquide est évident et reste le plus significatif suivi du temps de sonication en terme quadratique. Nous remarquons aussi l'effet en terme quadratique et linéaire de l'énergie de sonication.

Tableau 23. Analyse de la variance ANOVA pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.

Variables	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	p
(1)Ratio solide-liquide L+Q	2201,331	2	1100,666	26,40188	0,001062
(2)Energie de sonication L+Q	373,366	2	186,683	4,478	0,064567
(3)Temps de sonication L+Q	562,925	2	281,463	6,7515	0,029117
Erreur	250,133	6	41,689		
Total somme des carrés	3527,827	12			

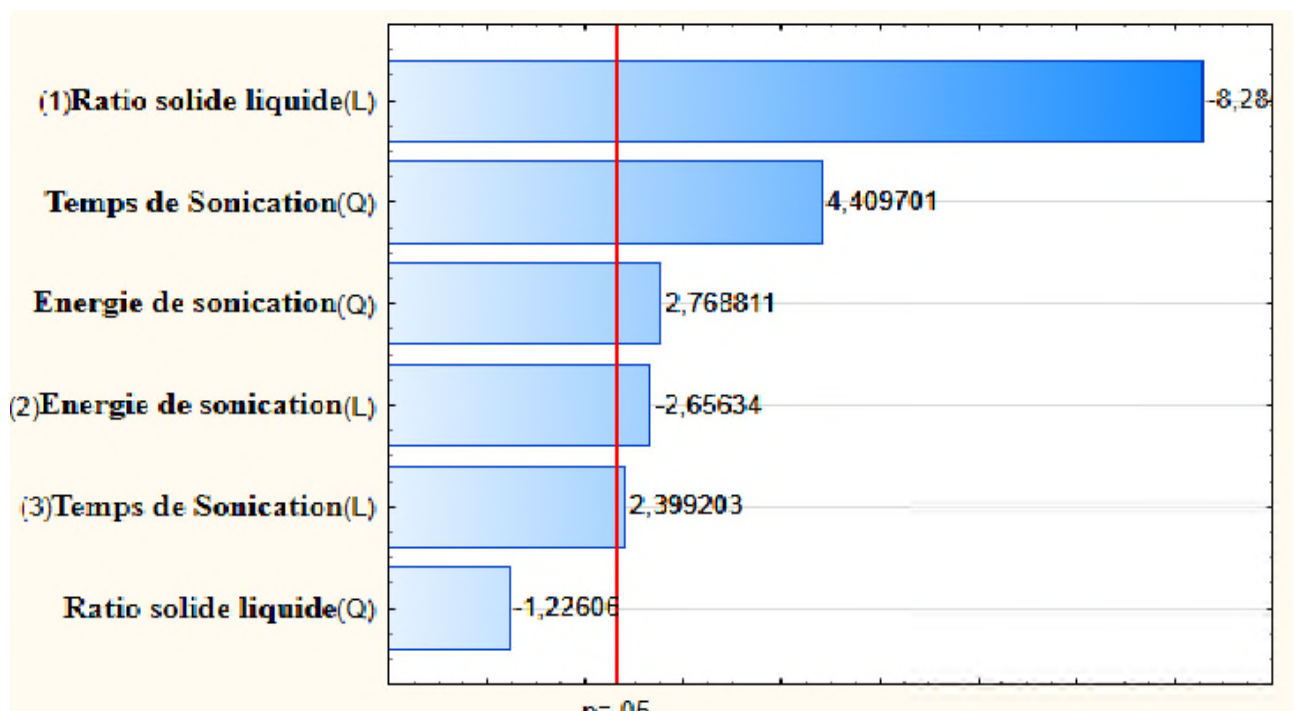


Figure 34. Diagramme de Pareto pour les effets de l'extraction de protéines.

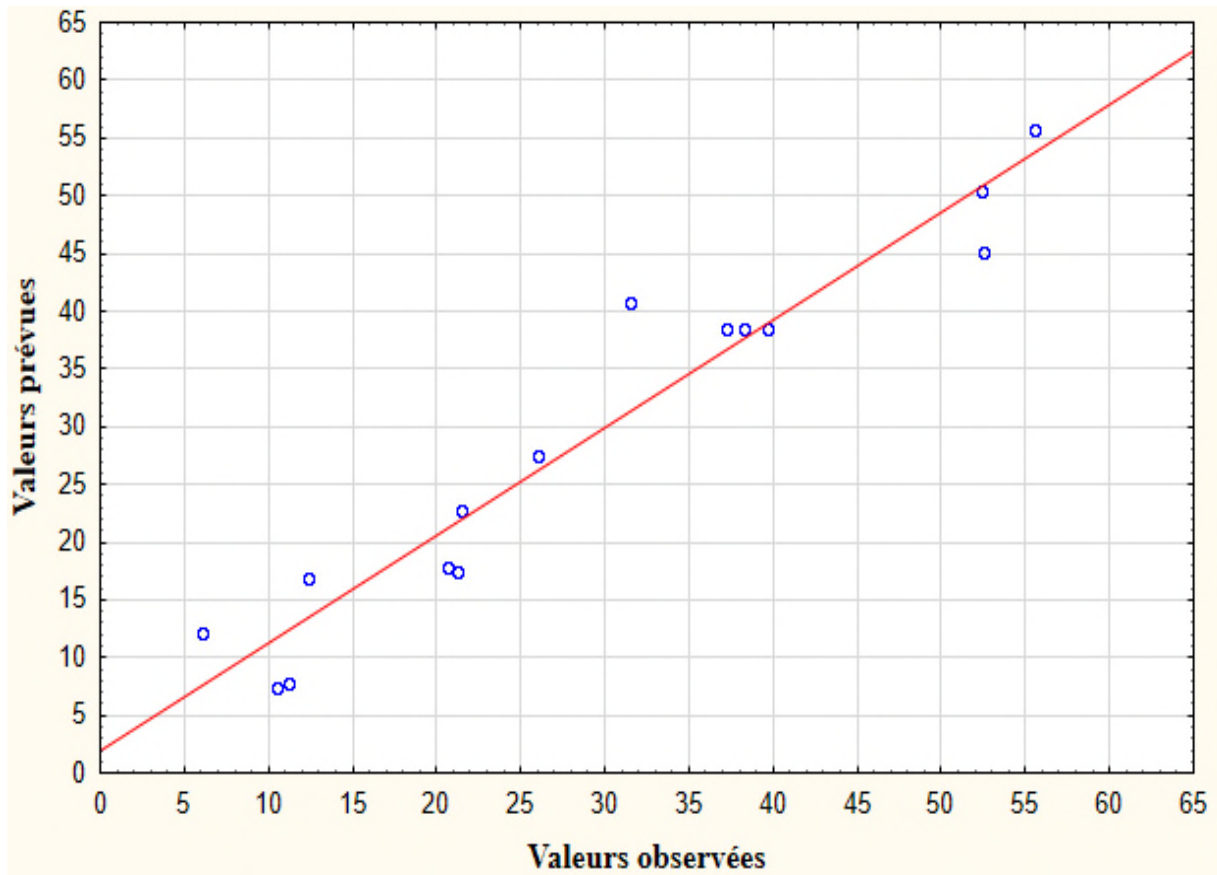


Figure 35. Valeurs observées et valeurs prévues pour l'extraction des protéines.

Par ailleurs, sur la Figure 35, nous remarquons que la différence entre les valeurs observées et les valeurs prévues est minime renforçant ainsi la signification du modèle. Dans ce sens, le coefficient de variation est très bas (3,62%) et le coefficient de détermination est de 0,93.

Le Tableau 24 des coefficients d'estimation issus du modèle nous a permis de déterminer l'équation polynomiale du second ordre représentant le taux de protéines en fonction des différents paramètres du modèle. Cette équation se présente comme suit :

$$Y = 26,78 - 32,95(RSL) - 10,57(ES) + 8,10(ES)^2 + 9,54(TS) + 12,90(TS)^2$$

Où

Y= Taux de protéines (%).

RSL : Ratio solide-liquide.

ES= Energie de sonication (%).

TS= Temps de sonication (min).

Tableau 24. Estimation des effets pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.

	Effect	Std.Er r.	t(8)	p	-95,% Cnf.L imt	+95,% Cnf.Li mt	Coeff.	Std.Err. - Coeff.	-95,% Cnf.L imt	+95,% Cnf.Li mt
Mean/Interc.	26,79	1,62	16,50	0,00	23,05	30,53	26,79	1,62	23,05	30,53
(1)Concentration de la biomasse(L)	- 32,95	3,98	-8,29	0,00	-42,13	-23,78	-16,48	1,99	-21,06	-11,89
Concentration de la biomasse (Q)	-3,59	2,93	-1,23	0,26	-10,34	3,16	-1,79	1,46	-5,17	1,58
(2) Energie de sonication (L)	- 10,56	3,98	-2,66	0,03	-19,74	-1,39	-5,28	1,99	-9,87	-0,70
Energie de sonication (Q)	8,10	2,93	2,77	0,02	1,35	14,85	4,05	1,46	0,68	7,43
(3)Temps de sonication (L)	9,54	3,98	2,40	0,04	0,37	18,71	4,77	1,99	0,19	9,36
Temps de sonication (Q)	12,90	2,92	4,409	0,002	6,15	19,65	6,45	1,46	3,07	9,82

Les coefficients d'estimation montrent l'importance de la contribution des trois paramètres en terme linéaire et du temps et de l'énergie de sonication en quadratique. Ainsi, nous avons constaté que le taux de protéines est inversement proportionnel au ratio solide liquide et à l'énergie de sonication en terme linéaire. Par contre, l'augmentation du temps de sonication en terme linéaire et quadratique, ainsi que l'énergie de sonication en terme quadratique contribuent à l'augmentation du taux de protéines.

III.3.2 Analyse des surfaces de réponse.

L'effet combiné des différents paramètres sur le taux de protéines a été réalisé par les courbes de surface de réponse tridimensionnelles, ainsi que des courbes de contour à deux dimensions. Ces courbes, en maintenant un paramètre à son niveau central et en variant les deux autres paramètres, sont montrées sur la Figure 36.

Sur la Figure 36 (a), nous observons l'effet quadratique de l'énergie de sonication et l'effet linéaire du ratio solide-liquide. Le taux de protéines est inversement proportionnel au ratio solide liquide alors que l'augmentation de l'énergie de sonication provoque une augmentation du taux de protéines avec un optimum au niveau central. Cette observation s'applique aussi au temps de sonication dont l'effet est quadratique avec un optimum au niveau central. Il en est de même pour le taux de protéines qui demeure aussi inversement proportionnel au ratio solide-liquide (Figure 30 (b)). Par ailleurs, la Figure 30 (c) montre l'effet quadratique du temps et de l'énergie de sonication ou l'on constate que la valeur maximale du taux de protéines est obtenue au niveau central de ces deux paramètres.

Vu que les travaux sur l'optimisation de l'extraction des protéines par MSR restent limités, nous avons eu recours à la comparaison avec d'autres produits alimentaires dont l'optimisation par MSR a utilisé les mêmes variables. Ainsi, le ratio solide-liquide a un effet linéaire sur l'extraction des protéines à partir des graines de poivron rouge (**Firatligil-Durmus et Evranuz, 2010**), des lentilles (**Jarpa-Parra et al., 2014**) . Par contre, il n'a pas d'effet significatif sur l'extraction des protéines à partir du haricot Pinto et le pois pigeon (**Mizubuti et al., 2000**). Dans une étude sur les graines de citrouille germées, le ratio solide-liquide a un effet quadratique (**Quanhong et Caili, 2005**).

Dans le cas du riz Bran, le ratio solide-liquide était le paramètre le plus significatif (**Phongthai et al., 2016**). Dans les études, préalablement cités, de l'optimisation de l'extraction des protéines à partir des poivrons rouges (**Firatligil-Durmus et Evranuz, 2010**) et des lentilles (**Jarpa-Parra et al., 2014**), les auteurs ont constaté que l'augmentation du taux de protéines est proportionnelle à l'augmentation du ratio solide-liquide, contrairement à notre étude sur le spiruline.

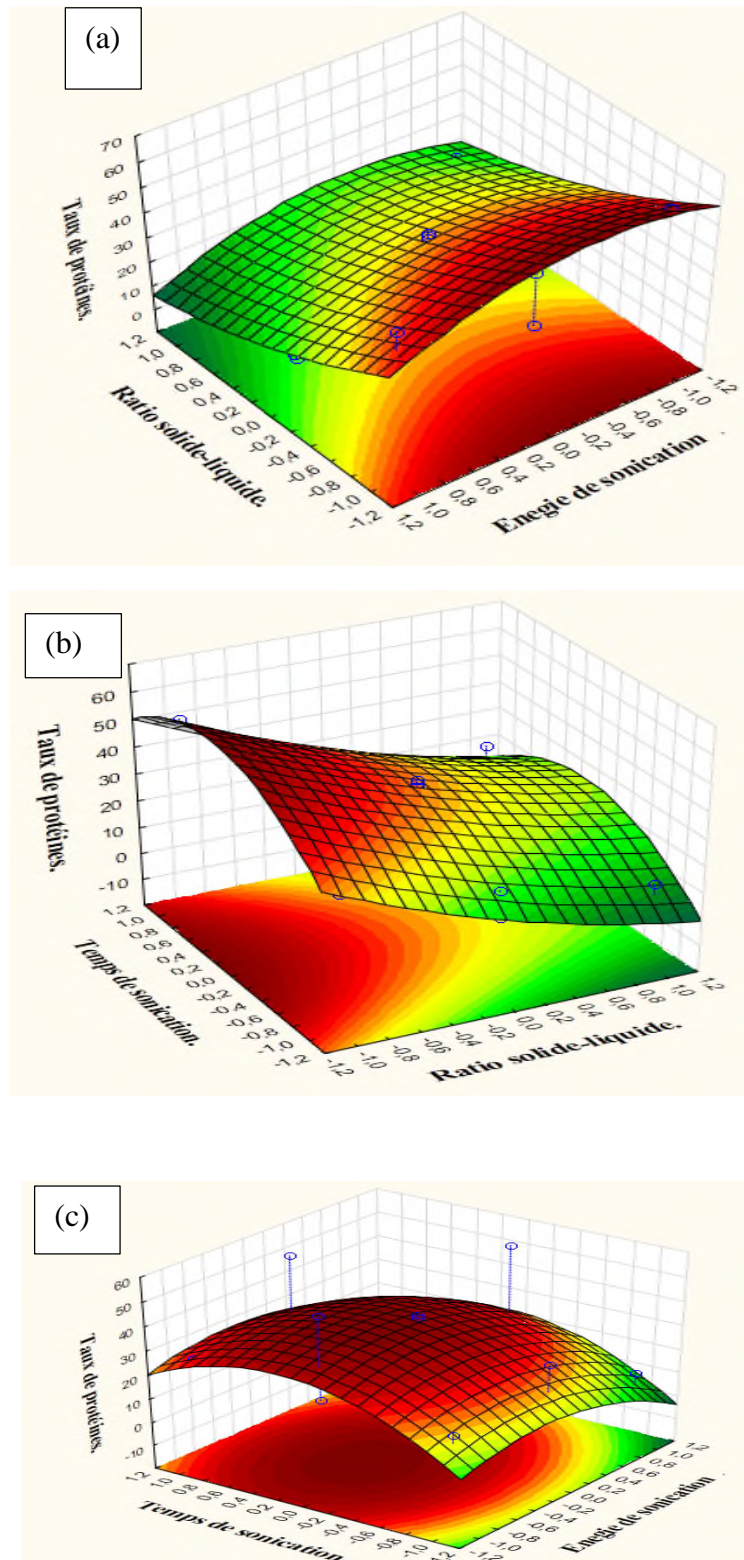


Figure 36. Surfaces de réponse 3D du taux de protéines de la poudre de spiruline en fonction (a) du ratio solide-liquide et énergie de sonication, (b) du ratio solide-liquide et du temps de sonication, (c) du temps et de l'énergie de sonication.

III.3.3 Résultat du modèle.

Le Tableau 25 regroupe les résultats du modèle en fonction des différentes combinaisons du Box-Benhken Design. Le résultat maximum obtenu pour le taux de protéines est de 55,54% avec un ratio solide-liquide de 1 :100, 30% d'énergie de sonication et 8 min de sonication (essai 10).

Ce résultat est supérieur à celui obtenu par **Safi et al.** (2014), à savoir 53 % où les auteurs ont utilisé les ultrasons à 20 kHz pendant 30 min (**Safi et al.**, 2014a). Dans une autre étude, le taux obtenu est de 37 %, ce faible taux s'explique par la méthode d'extraction qui ne comporte pas l'utilisation des ultrasons (**Safi et al.**, 2014b). Il en est de même pour le résultat obtenu par **Devi et Venkataraman** (1984), qui est de 50 %, sans traitement préalable aux ultrasons (**Devi et Venkataraman**, 1984). Par contre, avec l'utilisation des ultrasons, le taux de protéines a atteint 56% montrant l'impact positif de l'utilisation des ultrasons (**Eldalatony et al.**, 2016).

Dans les différents travaux de **Safi et al.**, ayant pour objet l'extraction des protéines à partir de la spiruline avec différents prétraitements, dont les ultrasons, le taux de protéines obtenu est de 53% à 54% (**Safi et al.**, 2014a; **Safi et al.**, 2013; **Safi et al.**, 2014b). L'effet des ultrasons s'explique par l'altération de la paroi cellulaire permettant l'infiltration de l'eau pour dissoudre les protéines et faciliter leur libération (**Safi et al.**, 2014b).

C'est aussi la conséquence de la synergie du traitement alcalin avec les caractéristiques mécaniques de la paroi cellulaire (**Safi et al.**, 2013). En effet, la paroi cellulaire de la spiruline (cyanobactérie Gram négatif) est constituée d'une paroi fine riche en osamines réticulés avec des chaînes de polypeptides. Dans des conditions alcalines, les osamines subissent une désamination, tandis que les polypeptides deviennent solubles.

En conséquence, la paroi cellulaire devient perméable favorisant la libération des protéines (**Safi et al.**, 2014a). Il en est de même pour la spiruline où l'on remarque une augmentation du taux d'extraction des protéines par l'utilisation des ultrasons. Cette augmentation est confirmée par l'étude de **Dewi et al.** (2016), où avec l'utilisation des ultrasons, le taux de protéines atteint 56% (**Dewi et al.**, 2016). Dans ce sens, pour la microalgue *Nannochloopsis*, une exposition aux ultrasons pendant une minute à 20 kHz et 300 W a significativement augmenté le taux de protéines obtenu (**Gerde et al.**, 2013).

Tableau 25. Résultats du modèle en fonction des différentes combinaisons.

Essais	Ratio solide -liquide	Energie de sonication	Temps de sonication	Taux de protéines (%)
1	0	0	0	38,27
2	0	1	-1	10,54
3	-1	0	-1	31,48
4	1	0	-1	11,23
5	0	1	1	12,37
6	0	-1	-1	20,62
7	1	1	0	6,06
8	1	0	1	21,26
9	0	0	0	37,27
10	-1	-1	0	55,54
11	-1	0	1	52,37
12	-1	1	0	52,46
13	1	-1	0	21,49
14	0	0	0	39,68
15	0	-1	1	26,04

Dans son étude sur le prétraitement de la biomasse des microalgues pour le recouvrement des protéines, **Eldalatomy et al.** (2016) a constaté qu'une exposition aux ultrasons à 50°C. pendant 15 min. libère 2,3 mg de protéines/ g de biomasse (**Eldalatomy et al.**, 2016). Il en est de même dans une étude sur plusieurs microalgues ou **Ferreira et al.** ont signalé qu'une exposition aux ultrasons entre 50 et 60 kHz a augmenté le recouvrement des protéines (**Ferreira et al.**, 2016).

III.3.4 Optimisation de l'extraction.

Le but de ce chapitre est de déterminer les conditions optimales de l'extraction des protéines. Vu que le modèle mathématique est valide, nous avons réalisé les tracés de contour 2D afin de trouver la solution optimale. Tandis que deux facteurs sont maintenus à leur niveau central, le troisième facteur varie de sa valeur minimale, puis centrale ensuite maximale. La réponse optimale est visible sur la courbe étant la plus foncée d'où nous pouvons déterminer la valeur

de chaque facteur donnant la réponse optimale à partir du graphique (**Bouzaouit et Bidjou-Haiour**, 2015). Ainsi, sur les tracés de contour 2D où la troisième variable est maintenue à son niveau central, nous remarquons que sur deux courbes (Figure 37), nous pouvons constater l'obtention d'un taux de protéines supérieur à 60 %, d'où les valeurs optimales sont déterminées.

Sur la Figure 38, le troisième paramètre est maintenu à son niveau maximal. Sur deux tracés, nous remarquons des résultats supérieurs à 50% desquelles les valeurs optimales sont déterminées.

La Figure 39 donne les tracés de contour 2D dans le cas où le troisième paramètre est maintenu à son niveau minimal. Nous constatons que sur une seule courbe la valeur optimale est supérieure à 60%, et à l'instar des autres cas, les valeurs optimales sont déterminées.

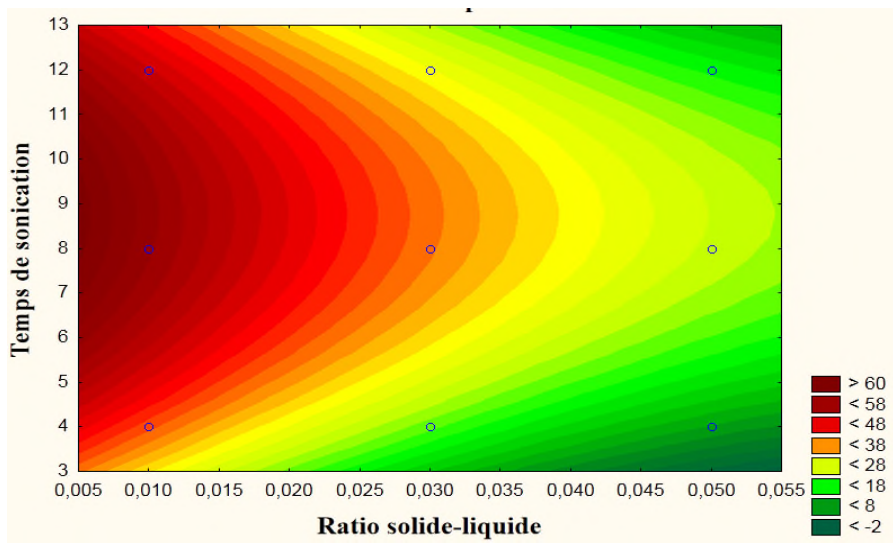
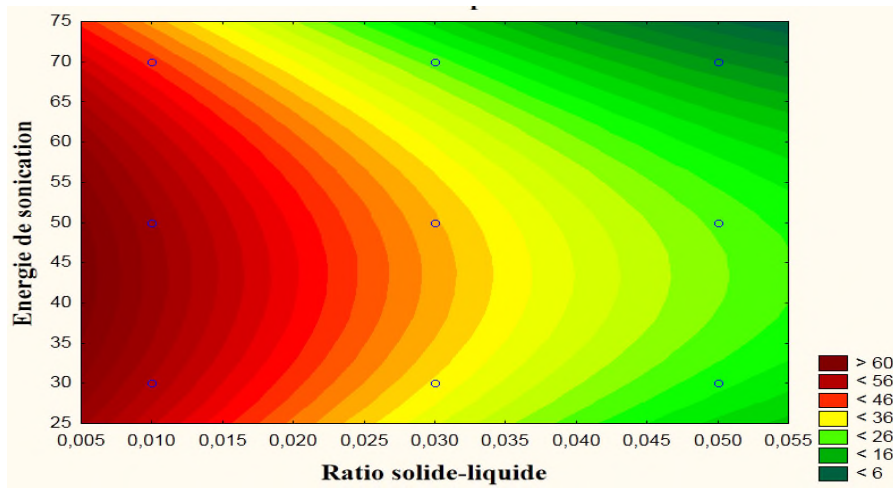
En conséquence, les valeurs optimales non codées sont les suivantes :

Ratio solide-liquide : 0,05 :100

Energie de sonication : 45%

Temps de sonication : 16 min.

La fonction de désirabilité a donné un taux optimal d'extraction des protéines de 65,849%, résultat qui n'a pas été obtenu dans les 15 expériences du Box-Benhken Design. La Figure 40 montre le profil de désirabilité réalisé avec la méthode quadratique, nous remarquons que cette valeur se situe dans l'espace de confiance pour les trois variables, et que la désirabilité est proche de 1 prouvant ainsi que le modèle est adéquat. (**Candioti et al.**, 2014) ; cette valeur a été obtenue lorsque le ratio solide liquide est à son niveau minimal, l'énergie et le temps de sonication au niveau central. Cette tendance est confirmée par le tableau des valeurs de désirabilité (Tableau 26) en fonction des niveaux de chaque paramètre où nous remarquons que la valeur de désirabilité est à son maximum quand le ratio solide-liquide est à son niveau minimal, l'énergie et le temps de sonication à des niveaux centraux.



Valeurs retenues :

Ratio solide-liquide :
0,5 :100

Temps de sonication : 9
min

Energie de
sonication :45%

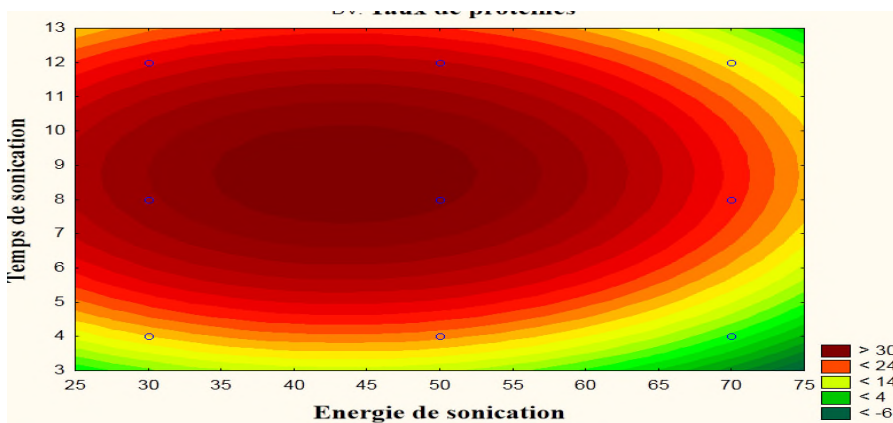
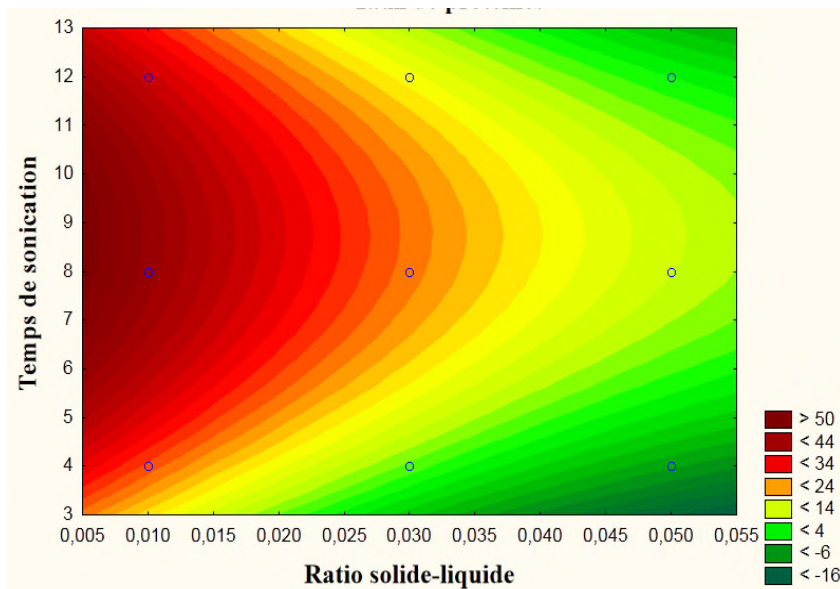
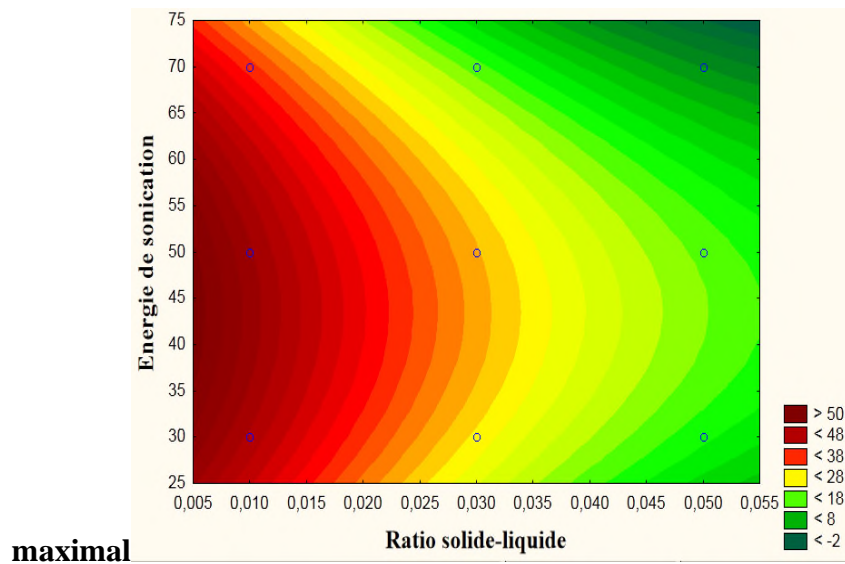


Figure 37. Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau central.



Valeurs retenues :
Aucune valeur retenue
vu que les taux
d'extraction sont faibles.

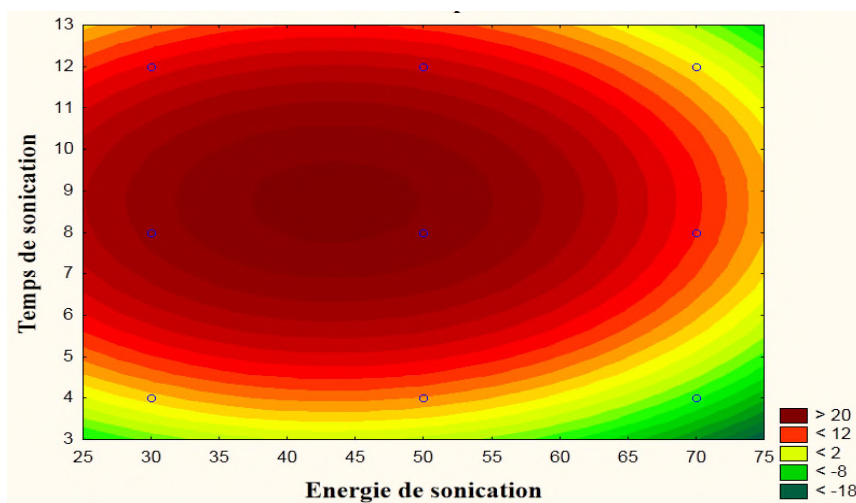
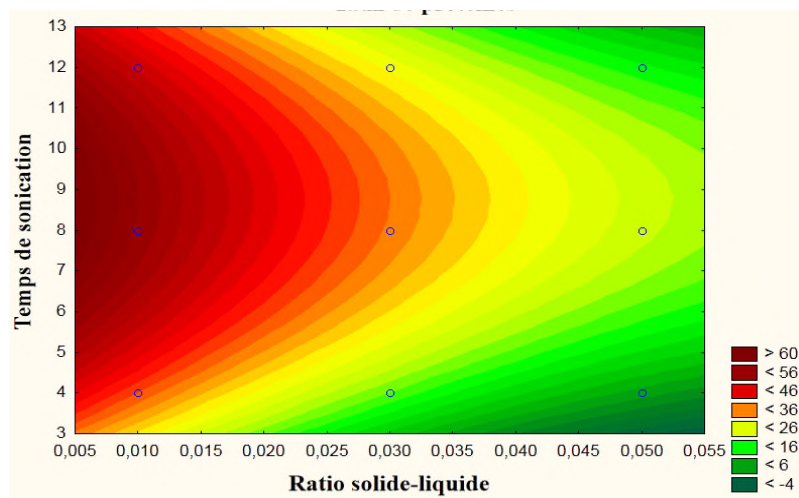
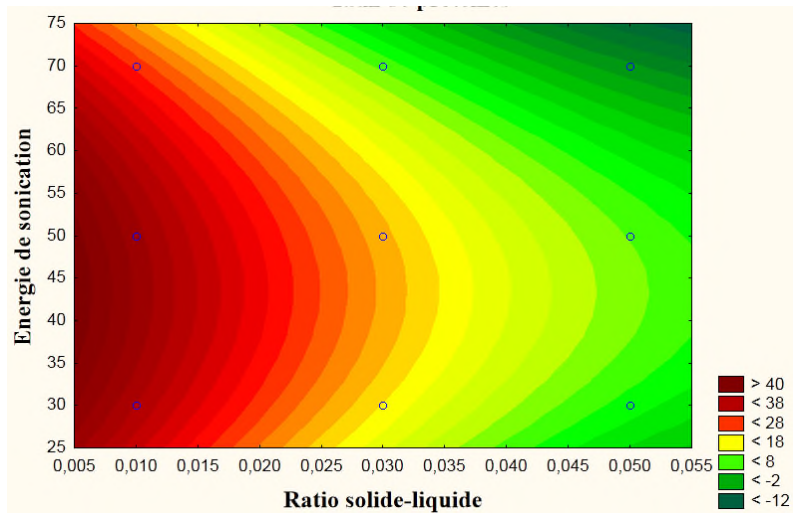


Figure 38. Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien du troisième paramètre au niveau maximum.



Valeurs retenues :

Ratio solide-liquide : 0,5 :100

Temps de sonication : 9 min

Energie de sonication :45%

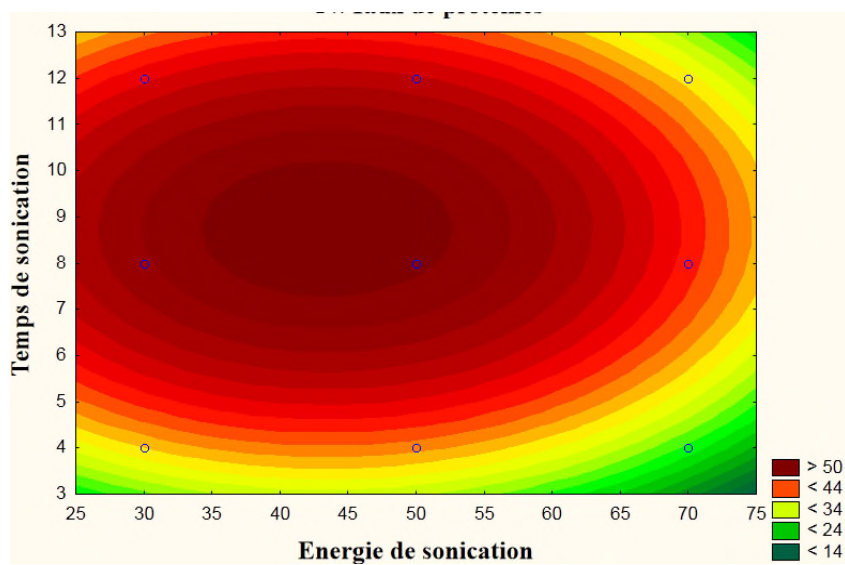


Figure 39 . Tracé de contour 2D du taux de protéines de la poudre de spiruline avec le maintien de deux paramètres au niveau central, le troisième au niveau minimum.

III.3.4.3.1 Ratio solide liquide

La Figure 40(a) montre que le meilleur score de désirabilité est obtenu lorsque la ratio solide liquide est à son niveau minimal. Il est inversement proportionnel au ratio solide liquide et atteint son maximum au niveau de 1 :100.

III.3.4.3.2 Energie de sonication

Au niveau de 45%, l'énergie de sonication donne le meilleur score de désirabilité, son influence est plus évidente à des niveaux bas, son augmentation au-delà de 60% provoque une baisse du score de désirabilité (Figure 40(b)).

III.3.4.3.3 Temps de sonication

Le score de désirabilité est au maximum quand le temps de sonication est à des niveaux moyens (Figure 40 ©). Aux niveaux extrêmes, le score de désirabilité baisse surtout aux valeurs minimales, il atteint son meilleur score à une temps de sonication de 9 min.

Ce résultat est aussi vérifié en introduisant ces valeurs dans l'équation du modèle, nous avons déterminé la solution optimale.

$$Y= 26,78-32,95(RSL)-10,57(ES)+8,10 (ES)^2+9,54 (TS)+ 12,90 (TS)^2.$$

$$Y= 60,32 \%$$

Ce résultat est supérieur au résultat maximum de l'expérimentation (55,54%, expérience 10, mais reste inférieur à la solution optimale obtenue par le logiciel.

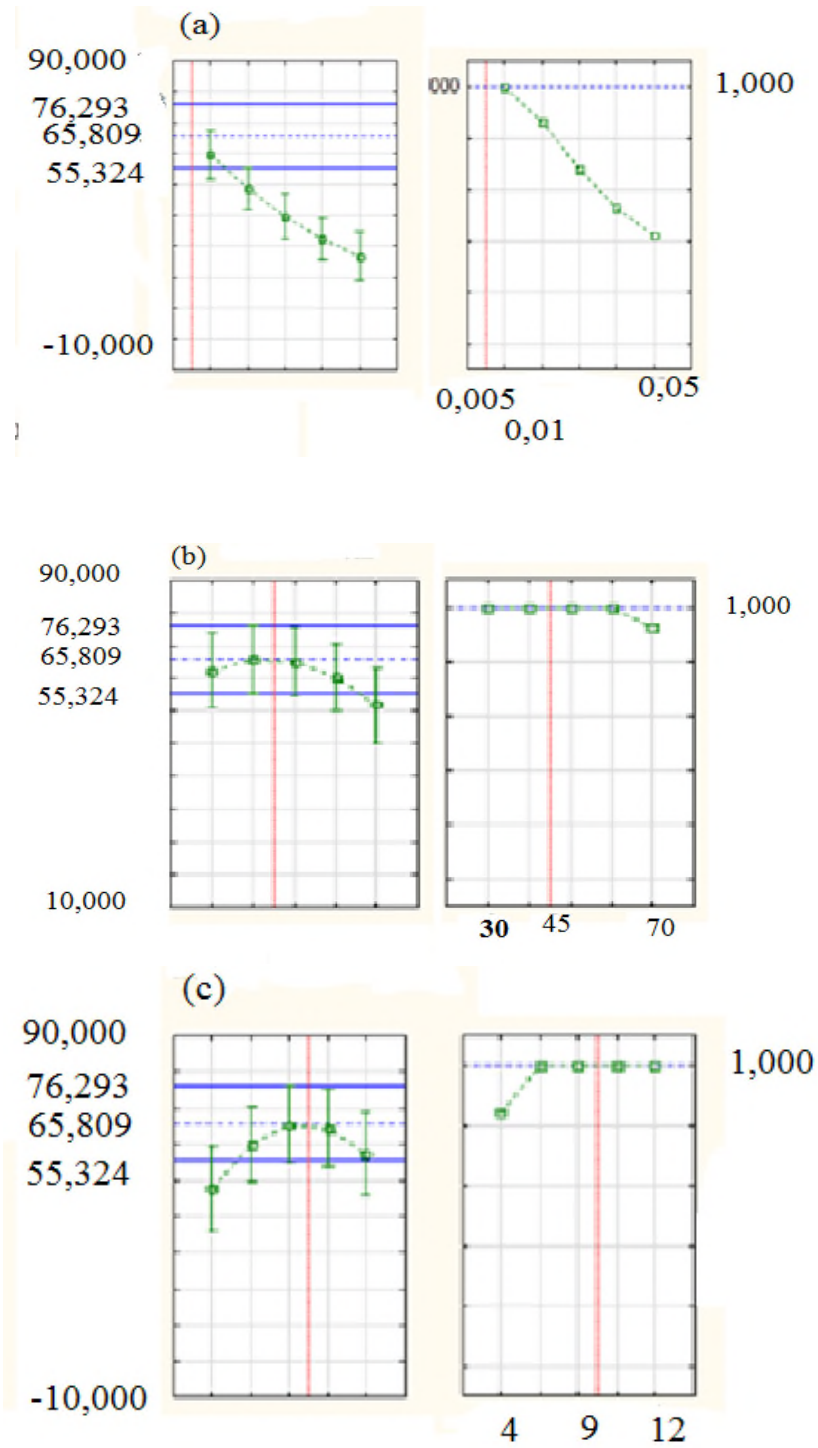


Figure 40. Profil de désirabilité pour l'extraction des protéines, (a) ratio solide liquide (b) énergie de sonication et (c) temps de sonication.

En conséquence, le résultat recherché après l’optimisation de l’extraction des protéines par la RSM est satisfaisant.

Tableau 26.Profil de désirabilité pour le modèle quadratique de surface de réponse du taux de protéines de la poudre de spiruline.

Variables	Niveau du paramètre	Capacité de rétention d’huile prévue	Valeur de désirabilité
Ratio solide-liquide	- 1,00	56,59	1,00
Ratio solide-liquide	- 0,50	45,66	0,80
Ratio solide-liquide	-	36,53	0,62
Ratio solide-liquide	0,50	29,19	0,47
Ratio solide-liquide	1,00	23,64	0,36
Énergie de sonication	- 1,00	60,96	1,00
Énergie de sonication	- 0,50	64,40	1,00
Énergie de sonication	-	63,78	1,00
Énergie de sonication	0,50	59,12	1,00
Énergie de sonication	1,00	50,40	0,90
Temps de sonication	- 1,00	43,35	0,75
Temps de sonication	- 0,50	55,42	1,00
Temps de sonication	-	61,03	1,00
Temps de sonication	0,50	60,19	1,00
Temps de sonication	1,00	52,89	0,95

III .3.5. Calcul du coût d’extraction.

Après introduction des équations de l’optimisation entre deux paramètres. Les équations sont limitées par les extremums de chaque paramètre prélevés sur les graphes. Le modèle obtenu est montré sur la Figure 41. Ainsi, l’équation $14*x + 0,504*y + 0,015*z$ a été déterminé où 14 est le prix du gramme de spiruline fourni par un producteur local, 0,504 est le prix de la consommation du courant électrique calculée par le wattmètre et 0,015, le prix du kW par minute est fourni par la société distributrice d’électricité, ce prix concerne la consommation à usage industriel.

Les équations du modèle ont été fournies par le logiciel statistica 10 en référence aux graphes sur la Figure 36. De ces mêmes graphes et pour chaque équation, nous avons prélevé les

valeurs minimales et maximales du modèle à partir du graphe. Enfin, pour chaque paramètre, nous avons aussi prélevé du graphe le niveau des valeurs non codées, le minimum et le maximum représentant pour chaque paramètre les limites de son influence. Ci-dessous, les résultats prélevés à partir du graphe.

L'équation montrant l'interaction entre le ratio solide liquide (x) et l'énergie de sonication (y) :

$$23.6532 - 16.4768*x - 5.2824*y + 9.1207*x^2 - 3.0875*x*y - 2.5728*y^2;$$

L'influence des deux paramètres s'étend entre 10% et 60% pour le taux de protéines entre -1,2 et 1,2 comme valeur des deux variables.

L'équation qui montre l'interaction entre le ratio solide liquide (x) et le temps de sonication (z) s'établit ainsi :

$$29.1425 - 16.4768*x + 4.771*z + 7.0623*x^2 - 2.7139*x*z - 9.4343*z^2$$

L'influence de ces deux paramètres a donné un taux de protéines entre 0% et 50 % avec une variation des deux paramètres entre -1,2 et 1,2.

Quant à l'interaction entre le temps de sonication (z) et l'énergie de sonication (y), elle est décrite par l'équation :

$$42.5065 - 5.2824*y + 4.771*z - 9.6427*y^2 - 0.9004*y*z - 14.4458*z^2$$

Le taux de protéines obtenu oscille entre 0 % et 20% , les deux paramètres varient de -1,2 à 1,2.

En conséquence, le modèle obtenu est montré sur la Figure 41.

MODEL:

min = 14*x + 0.504*y + 0.015*z;

10 <= 23.6532 - 16.4768*x - 5.2824*y + 9.1207*x^2 - 3.0875*x*y - 2.5728*y^2;

23.6532 - 16.4768*x - 5.2824*y + 9.1207*x^2 - 3.0875*x*y - 2.5728*y^2 <= 60;

0 <= 29.1425 - 16.4768*x + 4.771*z + 7.0623*x^2 - 2.7139*x*z - 9.4343*z^2;

29.1425 - 16.4768*x + 4.771*z + 7.0623*x^2 - 2.7139*x*z - 9.4343*z^2 <= 20;

10 <= 42.5065 - 5.2824*y + 4.771*z - 9.6427*y^2 - 0.9004*y*z - 14.4458*z^2;

42.5065 - 5.2824*y + 4.771*z - 9.6427*y^2 - 0.9004*y*z - 14.4458*z^2 <= 50;

x >= -1.2;

x <= 1.2;

y >= -1.2;

y <= 1.2;

z >= -1.2;

z <= 1.2;

END

Figure 41 : Réalisation du modèle mathématique pour l'obtention du coût de l'extraction
 Le résultat du modèle introduit dans le logiciel Lindo a donné le résultat montré sur la Figure 42. Après 13 itérations, le coût de l'extraction est évalué à 3,75 DA/g soit X+Y+Z sur le résultat du modèle.

Variable	Value	Reduced Cost
X	1.196220	0.000000
Y	1.200000	0.000000
Z	1.362309	0.000000
Row	Slack or Surplus	Dual Price
1	18.51148	-1.000000
2	2.418810	0.000000
3	-1.918810	0.6250000E-01
4	4.106327	0.000000
5	-3.406327	0.3125000E-01
6	0.4000000	0.000000
7	0.000000	0.6850980E-02
8	2.396220	0.000000
9	0.3780258E-02	0.000000
10	2.400000	0.000000
11	0.000000	1.150045
12	2.562309	0.000000
13	-0.1623092	1.000000

Figure 42 : Résultat du modèle pour le calcul du cout d'extraction.

Avec un taux de change de 1\$ US= 120 DA, ce coût est égal à 0,03 \$ US/ g de protéines. Ce prix est inférieur au prix moyen (0,2 \$ US). Cette différence peut être expliquée par le prix de l'électricité en Algérie, bien inférieur au prix pratiqué à travers le monde.

En prenant en considération le prix de la spiruline locale (donc 14 DA/g), le prix moyen des protéines à une teneur de 50% serait de 7,5 DA/g. Si l'on ajoute le coût de l'extraction (7,5

+3,75= 11,25 DA/g), le coût d'extraction représente 34% du coût total des protéines de la spiruline, valeur inférieure à la moyenne qui est de 50% à 60% (**Soto-Sierra *et al.***, 2018; **Vermuë *et al.***, 2018). Ce résultat montre, donc, la possibilité d'une importante réduction du cout des protéines de la spiruline permettant une utilisation à coût raisonnable dans l'industrie agroalimentaire.

Conclusion

Récemment, il y a un intérêt croissant pour la recherche de sources de protéines naturelles comme alternative aux protéines animales malsaines dans l'industrie alimentaire. Dans ce contexte, la spiruline (*Arthrospira platensis*) a suscité beaucoup d'intérêt en raison de ses propriétés nutritionnelles intéressantes.

Le présent travail a démontré que la méthodologie de surface de réponse était un bon outil pour déterminer les conditions optimales des propriétés fonctionnelles de la spiruline. De plus, l'utilisation des ultrasons comme prétraitement a contribué à améliorer la teneur en protéines, la capacité de rétention d'eau et la capacité de rétention d'huile de la poudre de spiruline. En effet, les valeurs ont été portées de 4,97 g de H₂O / g de spiruline et à 2,3 ml de H₂O / g de poudre de spiruline respectivement. Ces valeurs ont été obtenues à un pH de 4, une puissance de sonication de 70 % et 10 minutes pour la première, une température de 50 °C, une puissance de sonication de 30 % et 8 minutes pour la seconde.

Les isothermes de sorption de la poudre de spiruline montrent une courbe sigmoïdale de type II à l'instar des autres poudres alimentaires. Cependant, la teneur en eau de la monocouche augmente quand la température augmente contrairement à la plupart des poudres alimentaires, cette tendance est remarquée dans les produits riches en protéines et/ou polysaccharides. A partir de la courbe des isothermes, nous avons pu déterminer les conditions optimales de stockage de la spiruline en poudre, qui sont de 6 % de taux d'humidité et de 0,33 pour l'activité de l'eau. De cette même courbe, nous avons aussi déterminé l'eau non-solvante, à savoir 0,135 g d'eau par gramme de Spiruline qui représente la valeur maximale de l'eau pouvant être absorbée par la spiruline en poudre.

L'équation de GAB a donné des valeurs de X_m inférieures à 10, respectivement de 6,06 à 25°C et 3,94 à 40°C, montrant ainsi une stabilité de la poudre de spiruline pendant le stockage. La chaleur de sorption est similaire à celle des produits alimentaires avec des valeurs positives de ΔH_1 montrant une forte liaison à la monocouche, et des valeurs de ΔH_2 négatives vu que les molécules d'eau sont moins fortement liées à la multicouche.

La teneur élevée en protéines de la poudre de spiruline testée dans la présente étude a démontré l'effet positif des ultrasons sur l'extraction des protéines. Le rendement en protéines obtenu est de 55% pour un rapport liquide sur solide de 1: 100, 50W d'énergie de sonication et 12 minutes de sonication. Les bonnes propriétés fonctionnelles de la poudre de spiruline algérienne peuvent

être attribuées à sa forte teneur en protéines. Ainsi, l'incorporation De la spiruline dans des produits alimentaires améliorera la valeur nutritionnelle et l'acceptabilité des consommateurs.

Malgré sa richesse nutritionnelle, la production de spiruline reste limitée, elle est bien en deçà des perspectives attendues, ce qui réduit l'accession à des économies d'échelle et, en conséquence, le prix des protéines de spiruline est élevé par rapport, par exemple, aux protéines de soja largement utilisées, dans l'industrie agroalimentaire. Cette étude a montré que par l'utilisation des ultrasons, il est possible de réduire le cout de l'extraction de 34% contribuant ainsi à une plus large exploitation de la richesse nutritionnelle de la spiruline.

En perspectives, il serait intéressant d'approfondir les points suivants :

- L'optimisation de l'extraction des protéines en utilisant les ultrasons avec une revue à la baisse du ratio solide : liquide afin d'avoir un résultat optimal situé à l'intérieur de la zone expérimentale.
- Dans le but de valoriser les résultats encourageants des propriétés fonctionnelles, l'incorporation de la poudre de spiruline dans un aliment serait d'un apport nutritionnel important pour certaines catégories de population à l'instar des enfants en phase de croissance, des sportifs et des personnes âgées. Les résultats obtenus permettent l'incorporation de la spiruline dans des biscuits et gâteaux. Afin d'étendre à d'autres aliments, il serait utile d'étudier d'autres propriétés fonctionnelles comme la capacité de gélification et la capacité d'émulsification.
- Etudier les isothermes de désorption de la poudre de spiruline. Cette étude peut s'avérer intéressante au vu de la richesses de la spiruline en protéines en polysaccharides.

Références bibliographiques.

1. Adebisi AP, Adebisi AO, Hasegawa Y, Ogawa T, Muramoto K. 2009. Isolation and characterization of protein fractions from deoiled rice bran. *European Food Research and Technology* 228(3):391-401.
2. Ahmed H. 2004. *Principles and Reactions of Protein Extraction, Purification, and Characterization*. CRC Press. Boca Raton, FL, United States, 485 P
3. Aider M, Barbana C. 2011. Canola proteins: composition, extraction, functional properties, bioactivity, applications as a food ingredient and allergenicity—a practical and critical review. *Trends in Food Science & Technology* 22(1):21-39.
4. Aiking H. 2011. Future protein supply. *Trends in Food Science & Technology* 22(2):112-120.
5. Akçay S, Karasoy A. 2017. Remittances and Calorie Consumption Nexus in Algeria. *International Migration* 55(4):103-117.
6. Al-Dhabi NA. 2013. Heavy metal analysis in commercial Spirulina products for human consumption. *Saudi journal of biological sciences* 20(4):383-388.
7. Al-Muhtaseb AH, McMinn WAM, Magee TRA. 2002. Moisture Sorption Isotherm Characteristics of Food Products: A Review. *Food and Bioprocess Processing* 80(2):118-128.
8. Al-Muhtaseb AH, McMinn WAM, Magee TRA. 2004a. Water sorption isotherms of starch powders. *Journal of Food Engineering* 61(3):297-307.
9. Al-Muhtaseb AH, McMinn WAM, Magee TRA. 2004b. Water sorption isotherms of starch powders. Part 2: Thermodynamic characteristics. *Journal of Food Engineering* 62(2):135-142.
10. Alsenani F, Ahmed F, Schenk PM. 2015. *Nutraceuticals from microalgae*. CRC Press. Boca Raton, FL, United States, 685 P
11. Alves AC, Tavares GM. 2019. Mixing animal and plant proteins: Is this a way to improve protein techno-functionalities?. *Food Hydrocolloids* (2019).
12. Anderson-Cook CM, Borror CM, Montgomery DC. 2009. Response surface design evaluation and comparison. *Journal of Statistical Planning and Inference* 139(2):629-641.
13. Andrade L, Andrade C, Dias M, Nascimento C, Mendes M. 2018. Chlorella and Spirulina Microalgae as Sources of Functional Foods. *Nutraceuticals, and Food Supplements*:45-58.
14. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. Vol I 15th ed AOAC, Arlington, VA.
15. Aryee A, Agyei D, Udenigwe C. 2018. Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. *Proteins in Food Processing*: Elsevier. p 27-45.
16. Ayachi F, Nakbi A, Sakly A, Pinto LA, Lamine AB. 2019. Application of statistical physics formalism for the modeling of adsorption isotherms of water molecules on the microalgae Spirulina platensis. *Food and Bioprocess Processing* 114:103-112.
17. Ayranci E, Duman O. 2005. Moisture sorption isotherms of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and its protein isolate at 10, 20 and 30 C. *Journal of Food Engineering* 70(1):83-91.
18. Barbarino E, Lourenço SO. 2005. An evaluation of methods for extraction and quantification of protein from marine macro- and microalgae. *Journal of Applied Phycology* 17(5):447-460.
19. Barrett DM, Beaulieu JC, Shewfelt R. 2010. Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Critical reviews in food science and nutrition* 50(5):369-389.
20. Barsanti L, Gualtieri P. 2018. Is exploitation of microalgae economically and energetically sustainable? *Algal Research* 31:107-115.

21. Baş D, Boyacı IH. 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(3):836-845.
22. Bashir S, Sharif MK, Butt MS, Shahid M. 2016. Functional properties and amino acid profile of *Spirulina platensis* protein isolates. *Biological Sciences-PJSIR* 59(1):12-19.
23. Bastiaens L, Van Roy S, Thomassen G, Elst K. 2017. Biorefinery of algae: Technical and economic considerations. *Microalgae-based biofuels and bioproducts*: Elsevier. p 327-345.
24. Basu S, Shivhare US, Mujumdar A. 2006. Models for sorption isotherms for foods: a review. *Drying technology* 24(8):917-930.
25. Basu S, Shivhare US, Muley S. 2013. Moisture adsorption isotherms and glass transition temperature of pectin. *Journal of food science and technology* 50(3):585-589.
26. Becker EW. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology advances* 25(2):207-210.
27. Belay A, Ota Y, Miyakawa K, Shimamatsu H. 1993. Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology* 5(2):235-241.
28. Bell LN. 2007. Moisture effects on food's chemical stability. Barbosa-Canovas GV, Fontana AJ, Schmidt SJ, Labuza TP. *Water Activity in Foods.*: Blackwell Publishing and Institute of Food Technologists Ames, Iowa 198 P.
29. Benahmed Djilali A, Benamara S, Saidi N, Meksoud A. 2011. Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders. *Powder Technology* 208(3):725-730.
30. Benelhadj S, Gharsallaoui A, Degraeve P, Attia H, Ghorbel D. 2016. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* protein isolate. *Food chemistry* 194:1056-1063.
31. Berk Z. 2013. *Food Process Engineering and Technology*. Academic Press. London, 624 P
32. Berlin E, Kliman P, Anderson B, Pallansch M. 1973. Water binding in whey protein concentrates. *Journal of Dairy Science* 56(8):984-987.
33. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaleira LA. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* 76(5):965-977.
34. Blahovec J, Yanniotis S. 2007. GAB Generalized Equation for Sorption Phenomena. *Food and Bioprocess Technology* 1(1):82-90.
35. Bleakley S, Hayes M. 2017. Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods* 6(5):33.
36. Boffetta P, Couto E, Wichmann J, Ferrari P, Trichopoulos D, Bueno-de-Mesquita HB, Van Duijnhoven FJ, Büchner FL, Key T, Boeing H. 2010. Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Journal of the National Cancer Institute* 102(8):529-537.
37. Boland MJ, Rae AN, Vereijken JM, Meuwissen MP, Fischer AR, van Boekel MA, Rutherford SM, Gruppen H, Moughan PJ, Hendriks WH. 2013. The future supply of animal-derived protein for human consumption. *Trends in Food Science & Technology* 29(1):62-73.
38. Bourne M. 2002. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. Elsevier. New York, 614 P
39. Boussiba S. 1989. Ammonia uptake in the alkalophilic cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Plant and cell physiology* 30(2):303-308.
40. Bouzaouit N, Bidjou-Haiour C. 2015. Optimization of lipase catalyzed synthesis of fatty acid xylose ester using statistical experimental designs. *Der Pharma Chem* 7:261-269.

41. Brennan L, Owende P. 2010. Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14(2):557-577.
42. Bruns RE, Scarminio IS, de Barros Neto B. 2006. *Statistical design-chemometrics*. Elsevier, Amsterdam, 411 P.
43. Caballero-Cerón C, Guerrero-Beltrán JA, Mújica-Paz H, Torres JA, Welti-Chanes J. 2015. Moisture Sorption Isotherms of Foods: Experimental Methodology, Mathematical Analysis, and Practical Applications. *Water Stress in Biological, Chemical, Pharmaceutical and Food Systems*. 187-214.
44. Candiotti LV, De Zan MM, Camara MS, Goicoechea HC. 2014. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta* 124:123-138.
45. Capelli B, Cysewski GR. 2010. Potential health benefits of spirulina microalgae. *Nutrafoods* 9(2):19-26.
46. Cassini AS, Marczak LDF, Noreña CPZ. 2006. Water adsorption isotherms of texturized soy protein. *Journal of Food Engineering* 77(1):194-199.
47. Chacón-Lee T, González-Mariño GE. 2010. Microalgae for “healthy” foods—possibilities and challenges. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 9(6):655-675.
48. Chaiklahan R, Chirasuwan N, Triratana P, Loha V, Tia S, Bunnag B. 2013. Polysaccharide extraction from Spirulina sp. and its antioxidant capacity. *International journal of biological macromolecules* 58:73-78.
49. Chandra R, Iqbal HM, Vishal G, Lee H-S, Nagra S. 2019. Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. *Bioresource technology*.
50. Chen C. 2006. Obtaining the isosteric sorption heat directly by sorption isotherm equations. *Journal of Food Engineering* 74(2):178-185.
51. Chen C, Weng Y-K. 2008. Moisture Sorption Isotherms of Oolong Tea. *Food and Bioprocess Technology* 3(2):226-233.
52. Chen J, Wang Y, Benemann JR, Zhang X, Hu H, Qin S. 2016. Microalgal industry in China: challenges and prospects. *Journal of Applied Phycology* 28(2):715-725.
53. Chentir I, Doumandji A, Ammar J, Zili F, Jridi M, Markou G, Ouada HB. 2018. Induced change in Arthrospira sp.(Spirulina) intracellular and extracellular metabolites using multifactor stress combination approach. *Journal of Applied Phycology* 30(3):1563-1574.
54. Chiong T, Acquah C, Lau S, Khor E, Danquah M. 2016. Microalgal-Based Protein By-Products: Extraction, Purification, and Applications. *Protein Byproducts*: Elsevier. p 213-234.
55. Chirife J, Iglesias HA. 1978. Equations for fitting water sorption isotherms of foods: Part 1—a review. *International Journal of Food Science & Technology* 13(3):159-174.
56. Costa JAV, Cozza KL, Oliveira L, Magagnin G. 2001. Different nitrogen sources and growth responses of Spirulina platensis in microenvironments. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 17 (5) 439–442.
57. Costa JAV, Freitas BCB, Rosa GM, Moraes L, Morais MG, Mitchell BG. 2019. Operational and Economic Aspects of Spirulina-based Biorefinery. *Bioresource technology* 292 (5): 121-139.
58. Cuellar-Bermúdez SP, Barba-Davila B, Serna-Saldivar SO, Parra-Saldivar R, Rodriguez-Rodriguez J, Morales-Davila S, Goiris K, Muylaert K, Chuck-Hernández C. 2017.

- Deodorization of *Arthrospira platensis* biomass for further scale-up food applications. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 97(15):5123-5130.
59. D'Hondt E, Martin-Juarez J, Bolado S, Kasperoviciene J, Koreiviene J, Sulcius S, Elst K, Bastiaens L. 2017. Cell disruption technologies. *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*: Elsevier. p 133-154.
 60. Damodaran S. 2008. Amino acids, peptides and proteins. *Fennema's food chemistry* 4:217-329.
 61. Danesi EDG, Navacchi MFP, Takeuchi KP, Frata MT, Carvalho JCM. 2010. Application of spirulina platensis in protein enrichment of manioc based bakery products. *Journal of Biotechnology* (150):311-320
 62. Das AK, Dewanjee S. 2018. Optimization of Extraction Using Mathematical Models and Computation. *Computational Phytochemistry*: Elsevier. 75-106.
 63. De Boer J, Aiking H. 2011. On the merits of plant-based proteins for global food security: Marrying macro and micro perspectives. *Ecological Economics* 70(7):1259-1265.
 64. De Fraiture C, Giordano M, Liao Y. 2008. Biofuels and implications for agricultural water use: blue impacts of green energy. *Water policy* 10(S1):67-81.
 65. De Jesus CS, da Silva Uebel L, Costa SS, Miranda AL, de Moraes EG, de Moraes MG, Costa JAV, Nunes IL, de Souza Ferreira E, Druzian JI. 2018. Outdoor pilot-scale cultivation of *Spirulina* sp. LEB-18 in different geographic locations for evaluating its growth and chemical composition. *Bioresource technology* 256:86-94.
 66. de Souza MP, Hoeltz M, Gressler PD, Benitez LB, Schneider RC. 2018. Potential of microalgal bioproducts: general perspectives and main challenges. *Waste and Biomass Valorization*:1-18.
 67. Delrue F, Alaux E, Moudjaoui L, Gaignard C, Fleury G, Perilhou A, Richaud P, Petitjean M, Sassi J-F. 2017. Optimization of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) growth: from laboratory scale to pilot scale. *Fermentation* 3(4):59.
 68. Demirhan E, Özbek B. 2013. Influence of Enzymatic Hydrolysis on the Functional Properties of Sesame Cake Protein. *Chemical Engineering Communications* 200(5):655-666.
 69. Deshmukh G, Birwal P, Patel S, Datir R, Surywanshi A. 2017. Sorption Isotherms of Traditional Indian Dairy Products: A Review. *J Food Nutr Popul Health* 1(3):25.
 70. Desmorieux H, Decaen N. 2005. Convective drying of spirulina in thin layer. *Journal of Food Engineering* 66(4):497-503.
 71. Devi MA, Venkataraman L. 1984. functional properties of protein products of mass cultivated blue-green alga *Spirulina platensis*. *Journal of Food Science* 49(1):24-27.
 72. Dewi EN, Amalia U, Mel M. 2016. The Effect of Different Treatments to the Amino Acid Contents of Micro Algae *Spirulina* sp. *Aquatic Procedia* 7:59-65.
 73. Dini C, García MA, Vina SZ. 2012. Non-traditional flours: frontiers between ancestral heritage and innovation. *Food & function* 3(6):606-620.
 74. Doumandji A, Boutekrabt L, Saidi NA, Doumandji S. 2012. Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal. *Nature & Technologie* 6:40-50.
 75. Du S-k, Jiang H, Yu X, Jane J-l. 2014. Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT-Food Science and Technology* 55(1):308-313.
 76. Duprat F, Guilbot A. 1975. Solvent versus non-solvent water in starch-alcohol-water systems; *Proceedings of an International Symposium on Water Relations of Foods* 1975.
 77. El Nasri NA, El Tinay A. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food chemistry* 103(2):582-589.

78. Eldalatony MM, Kabra AN, Hwang JH, Govindwar SP, Kim KH, Kim H, Jeon BH. 2016. Pretreatment of microalgal biomass for enhanced recovery/extraction of reducing sugars and proteins. *Bioprocess and biosystems engineering* 39(1):95-103.
79. Erbas M, Aykin E, Arslan S, Durak AN. 2016. Adsorption behaviour of bulgur. *Food chemistry* 195:87-90.
80. Falquet J, Urni J. 2006. *Spiruline. Aspects nutritionnels*. Ed Antenna Technologies, Genève, 41 P.
81. Ferradji A, Matallah M. 2012. Sorption Isotherms and Isotheric Heats for Algerian Dates Deglet Nour. *American Journal of Food Technology* 7(6):352-362.
82. Ferreira AF, Dias APS, Silva CM, Costa M. 2016. Effect of low frequency ultrasound on microalgae solvent extraction: analysis of products, energy consumption and emissions. *Algal Research* 14:9-16.
83. Ferreira SL, Bruns RE, da Silva EG, Dos Santos WN, Quintella CM, David JM, de Andrade JB, Breitzkreitz MC, Jardim IC, Neto BB. 2007a. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Journal of chromatography A* 1158(1-2):2-14.
84. Ferreira SL, Bruns RE, Ferreira HS, Matos GD, David JM, Brandao GC, da Silva EG, Portugal LA, dos Reis PS, Souza AS and others. 2007b. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta* 597(2):179-186.
85. Ferreira SL, Caires AO, Borges TdS, Lima AM, Silva LO, dos Santos WN. 2017. Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs. *Microchemical Journal* 131:163-169.
86. Filali R, Lasseur C, Dubertret G. MELiSSA: nitrogen sources for growth of the cyanobacterium *Spirulina*. Sixth European Symposium on Space Environmental Control Systems. Vol. 400. 1997. p 909.
87. Finamore A, Palmery M, Bensehaila S, Peluso I. 2017. Antioxidant, immunomodulating, and microbial-modulating activities of the sustainable and ecofriendly spirulina. *Oxidative medicine and cellular longevity* (2017).
88. Finley JW, Hurst WJ, Lee CY. 2018.. Hurst, W. Jeffrey, John W. Finley, and John M. deMan. Additives and Contaminants. *Principles of Food Chemistry*. Springer, Cham, 2018. 527-565.
89. Firatligil-Durmus E, Evranuz O. 2010. Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*). *LWT-Food Science and Technology* 43(2):226-231.
90. Foegeding EA, Davis JP. 2011. Food protein functionality: a comprehensive approach. *Food Hydrocolloids* 25(8):1853-1864.
91. Föste M, Elgeti D, Brunner A-K, Jekle M, Becker T. 2015. Isolation of quinoa protein by milling fractionation and solvent extraction. *Food and Bioprocess Processing* 96:20-26.
92. Fox PF, Uniacke-Lowe T, McSweeney PLH, O'Mahony JA. 2015. Water in Milk and Dairy Products. *Advanced Dairy Chemistry Volume 3* : 299-320.
93. Furmaniak S, Terzyk AP, Gołembiewski R, Gauden PA, Czepirski L. 2009. Searching the most optimal model of water sorption on foodstuffs in the whole range of relative humidity. *Food Research International* 42(8):1203-1214.
94. Garcia-Pichel F. 2009. The evolution of a capacity to build supra-cellular ropes enabled filamentous cyanobacteria to colonize highly erodible substrates. *PLoS One*, 4(11), 115-135.
95. García JL, de Vicente M, Galán B. 2017. Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microbial biotechnology* 10(5):1017-1024.

96. Gerde JA, Montalbo-Lomboy M, Yao L, Grewell D, Wang T. 2012. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. *Bioresource technology* 125:175-181.
97. Gerde JA, Wang T, Yao L, Jung S, Johnson LA, Lamsal B. 2013. Optimizing protein isolation from defatted and non-defatted *Nannochloropsis* microalgae biomass. *Algal Research* 2(2):145-153.
98. González-Fernández C, Ballesteros M. 2013. Microalgae autoflocculation: an alternative to high-energy consuming harvesting methods. *Journal of Applied Phycology* 25(4):991-999.
99. Goulambasse T-R, 2018; La spiruline, Activités thérapeutiques et son interet dans la lutte contre la malnutrition à Madagascar. Thésée Doctorat, Université de Lille, Faculté de la Pharmacie.
100. Grant G. 2016. Isolation/Purification of Proteins. *Molecular Cell Biology*. Elsevier Inc., 2015. 66-74.
101. Guéguen J, Walrand S, Bourgeois O. 2016. Les protéines végétales: contexte et potentiels en alimentation humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 51(4):177-185.
102. Guilbot A, Lindenberg A. 1960. Eau non-solvante et eau de sorption de la cellule de levure. *Biochimica et Biophysica Acta* 39(3):389-397.
103. Gunstone FD. 2003. *Lipids for functional foods and nutraceuticals*. Oily Press. Woodhead Publishing Limited .344 P
104. Hadiyanto H, Adetya NP. 2018. Response surface optimization of lipid and protein extractions from *Spirulina platensis* using ultrasound assisted osmotic shock method. *Food Science and Biotechnology* 27(5):1361-1368.
105. Hambraeus L. 2014. *Protein and Amino Acids in Human Nutrition*. Elsevier, London, 47 P.
106. Haque MA, Timilsena B, Adhikari B. 2016. Food proteins, structure, and function. Reference Module in Food Science. Elsevier.03057-2 (2016).
107. Heiss. 1968. *Haltbarkeit and Sorptionsverhalten wasseramer Lebensmittel*. Springer-Verlag, Berlin, 79 P
108. Heldt H-W, Piechulla B. 2010. *Plant biochemistry*. Elsevier Academic Press. Heidelberg, 591 P
109. Henrikson R. 2010. *Spirulina World Food: How this micro algae can transform your health and our planet*. Ronore Enterprises, Incorporated. Hawaii, 167 P.
110. Higuera-Barraza O, Del Toro-Sanchez C, Ruiz-Cruz S, Márquez-Ríos E. 2016. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrasonics sonochemistry* 31:558-562.
111. Hill TL. 1952. Theory of physical adsorption. *Advances in Catalysis*: Vol. 4. Academic Press, 1952. 211-258
112. Hirano M, Mori H, Miura Y, Matsunaga N, Nakamura N, Matsunaga T. 1990. γ -Linolenic acid production by microalgae. *Applied biochemistry and biotechnology* 24(1):183-191.
113. Ho S-H, Liao J-F, Chen C-Y, Chang J-S. 2018. Combining light strategies with recycled medium to enhance the economic feasibility of phycocyanin production with *Spirulina platensis*. *Bioresource technology* 247:669-675.
114. Hoseini S, Khosravi-Darani K, Mozafari M. 2013. Nutritional and medical applications of spirulina microalgae. *Mini reviews in medicinal chemistry* 13(8):1231-1237.
115. Hudson BJ, Karis IG. 1974. The lipids of the alga *Spirulina*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 25(7):759-763

116. Huppertz T. 2019. Protein Ingredients in Low-and Intermediate-Moisture Systems. (2019): 483-486.
117. Hyardin A. 2008. Étude de la fonctionnalité alimentaire de plats industriels. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine.
118. Hyardin A, Astier C, Méjean L. 2008. La fonctionnalité de l'aliment: un concept défini. *Médecine des maladies métaboliques* 2(4):349-353.
119. Hyardin A, Astier C, Méjean L. 2009. Peut-on parler de fonctionnalité pour un aliment de formulation complexe? *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 44(3):119-123.
120. Hyardin A, Cuny A, Méjean L. 2007. La fonctionnalité alimentaire: illusion aujourd'hui, réalité demain. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 42(3):146-152.
121. İltter I, Akyl S, Demirel Z, Koç M, Conk-Dalay M, Kaymak-Ertekin F. 2018. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using different techniques. *Journal of Food Composition and Analysis* 70:78-88.
122. Inokuchi R, Kuma Ki, Miyata T, Okada M. 2002. Nitrogen-assimilating enzymes in land plants and algae: phylogenic and physiological perspectives. *Physiologia Plantarum* 116(1):1-11.
123. Janczyk P, Wolf C, Souffrant WB. 2005. Evaluation of nutritional value and safety of the green microalgae *Chlorella vulgaris* treated with novel processing methods. *Arch Zootech* 8:132-147.
124. Jarpa-Parra M, Bamdad F, Wang Y, Tian Z, Temelli F, Han J, Chen L. 2014. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT - Food Science and Technology* 57(2):461-469.
125. Jiang L, Wang J, Li Y, Wang Z, Liang J, Wang R, Chen Y, Ma W, Qi B, Zhang M. 2014. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Research International* 62:595-601.
126. Jovanovich G, Puppo MaC, Giner SA, Añón MaC. 2003. Water uptake by dehydrated soy protein isolates: Comparison of equilibrium vapour sorption and water imbibing methods. *Journal of Food Engineering* 56(4):331-338.
127. Julia C, Fézeu L, Ducrot P, Méjean C, Péneau S, Touvier M, Herberg S, Kesse-Guyot E. 2017. La qualité nutritionnelle des aliments consommés est associée prospectivement au risque de syndrome métabolique. *Nutrition Clinique et Métabolisme* 31(1):57.
128. Jung J-Y, Yang J-W, Kim K, Hwang K-T, Jung SM, Kwon J-H. 2015. Cost-efficient cultivation of *Spirulina platensis* by chemical absorption of CO₂ into medium containing NaOH. *Korean Journal of Chemical Engineering* 32(11):2285-2289.
129. Kandasamy G, Karupiah SK, Rao PVS. 2012. Salt-and pH-induced functional changes in protein concentrate of edible green seaweed *Enteromorpha* species. *Fisheries science* 78(1):169-176.
130. Kelly GM, O'Mahony JA, Kelly AL, O'Callaghan DJ. 2016. Water sorption and diffusion properties of spray-dried dairy powders containing intact and hydrolysed whey protein. *LWT- Food Science and Technology* 68:119-126.
131. Keris-Sen UD, Sen U, Soydemir G, Gurol MD. 2014. An investigation of ultrasound effect on microalgal cell integrity and lipid extraction efficiency. *Bioresource technology* 152:407-413.
132. Khan Z, Bhadouria P, Bisen P. 2005. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Current pharmaceutical biotechnology* 6(5):373-379.
133. Kilcast D. 2013. Measurement of the sensory quality of food: an introduction. *Instrumental Assessment Of Food Sensory Quality*: Elsevier. p 1-26.
134. Kinsella JE. 1979. Functional properties of soy proteins. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 56(3Part1):242-258.

135. Kinsella JE, Fox PF, Rockland LB. 1986. Water sorption by proteins: milk and whey proteins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 24(2):91-139.
136. Kinsella JE, Melachouris N. 1976. Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 7(3):219-280.
137. Koyande AK, Chew KW, Rambabu K, Tao Y, Chu D-T, Show P-L. 2019. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness* 8:16-24.
138. Kumar K, Mahadevaswamy M, Venkataraman L. 1995. Storage quality of powdered cyanobacterium—*Spirulina platensis*. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 201(3):289-292.
139. Kuntz Jr I, Kauzmann W. 1974. Hydration of proteins and polypeptides. *Advances in protein chemistry*. Elsevier: 239-345.
140. Kurd F, Samavati V. 2015. Water soluble polysaccharides from *Spirulina platensis*: Extraction and in vitro anti-cancer activity. *International journal of biological macromolecules* 74:498-506.
141. Labuza TP. 1984. Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN (1984) 65 P.
142. Labuza TP, Altunakar B. 2007. Water activity prediction and moisture sorption isotherms. *Water activity in foods: Fundamentals and applications* 1:109-154.
143. Lai YP, Mondor M, Moresoli C, Drolet H, Gros-Louis M, Ippersiel D, Lamarche F, Arcand Y. 2013. Production of soy protein isolates with low phytic acid content by membrane technologies: impact of the extraction and ultrafiltration/diafiltration conditions. *Journal of Food Engineering* 114(2):221-227.
144. Lee J-B, Hayashi T, Hayashi K, Sankawa U. 2000. Structural Analysis of Calcium Spirulan (Ca-SP)-Derived Oligosaccharides Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Journal of natural products* 63(1):136-138.
145. Le Hir A, Chaumeil J-C, Brossard D, Charrueau C, Crauste-Manciet S., 2016. *Pharmacie Galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments*. Elsevier Masson, Paris, 456 P.
146. Li-Chan E, Lacroix I. 2018. Properties of proteins in food systems: an introduction. *Proteins in food processing*. Elsevier. p 1-25.
147. Li X, Li W, Zhai J, Wei H, Wang Q. 2019. Effect of ammonium nitrogen on microalgal growth, biochemical composition and photosynthetic performance in mixotrophic cultivation. *Bioresource technology* 273:368-376.
148. Li Y, Horsman M, Wu N, Lan CQ, Dubois-Calero N. 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnology progress* 24(4):815-820.
149. Liang S, Liu X, Chen F, Chen Z. 2004. *Current microalgal health food R & D activities in China. Asian pacific phycology in the 21st century: prospects and challenges*. Springer, Dordrecht 45-48.
150. Liu C, Wang H, Cui Z, He X, Wang X, Zeng X, Ma H. 2007. Optimization of extraction and isolation for 11S and 7S globulins of soybean seed storage protein. *Food chemistry* 102(4):1310-1316.
151. Lupatini AL, de Oliveira Bispo L, Colla LM, Costa JAV, Canan C, Colla E. 2016. Protein and carbohydrate extraction from *S. platensis* biomass by ultrasound and mechanical agitation. *Food Research International*. 99 : 1028-1035.

152. Lupatini AL, de Oliveira Bispo L, Colla LM, Costa JAV, Canan C, Colla E. 2017. Protein and carbohydrate extraction from *S. platensis* biomass by ultrasound and mechanical agitation. *Food Res Int* 99(Pt 3):1028-1035.
153. Lupatini Menegotto AL, Souza LESd, Colla LM, Costa JAV, Sehn E, Bittencourt PRS, Moraes Flores ÉLd, Canan C, Colla E. 2019. Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *Food Science and Technology* 114 :108267
154. Mader J, Gallo A, Schommartz T, Handke W, Nagel C-H, Günther P, Brune W, Reich K. 2016. Calcium spirulan derived from *Spirulina platensis* inhibits herpes simplex virus 1 attachment to human keratinocytes and protects against herpes labialis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 137(1):197-203. e193.
155. Madkour FF, Kamil AE-W, Nasr HS. 2012. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *The egyptian journal of aquatic research* 38(1):51-57.
156. Mahajan A, Ahluwalia A. 2010. Effect of processing on functional properties of *Spirulina* protein preparations. *African Journal of Microbiology Research* 4(1):055-060.
157. Mamat H, Akanda JMH, Zainol MK, Ling YA. 2018. The Influence of Seaweed Composite Flour on the Physicochemical Properties of Muffin. *Journal of aquatic food product technology* 27(5):635-642.
158. Marcus JB. 2019. Aging, Nutrition and Taste: Nutrition, Food Science and Culinary Perspectives for Aging Tastefully: Academic Press. Lndon 45 P.
159. Mathis P. 2015. Comprendre la photosynthèse. *Photoniques*(75):38-41.
160. Martin A. 2001. The "apports nutritionnels conseillés (ANC)" for the French population. *Reproduction Nutrition Development* 41(2):119-128.
161. Martin A. 2008. L'encadrement réglementaire des aliments fonctionnels. *Médecine des maladies métaboliques* 2(4):343-347.
162. Martinez-Monteagudo SI, Salais-Fierro F. 2014. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of mexican mennonite-style cheese. *Journal of food science and technology* 51(10):2393-2403.
163. Masojidek J, Koblizek M, Torzillo G. 2004. Photosynthesis in microalgae. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology; Amos Richmond, Victoria (Australia) 584 P.
164. Matondo FK, Takaisi K, Nkuadiolandu AB, Kazadi Lukusa A, Aloni MN. 2016. *Spirulina* supplements improved the nutritional status of undernourished children quickly and significantly: experience from kisantu, the Democratic Republic of the Congo. *International journal of pediatrics* (2016):1-6.
165. McMichael AJ, Powles JW, Butler CD, Uauy R. 2007. Food, livestock production, energy, climate change, and health. *The lancet* 370(9594):1253-1263.
166. Mecibah MS, Boukelia TE, Tahtah R, Gairaa K. 2014. Introducing the best model for estimation the monthly mean daily global solar radiation on a horizontal surface (Case study: Algeria). *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 36:194-202.
167. Misran A, Jaafar AH. 2019. Protein. Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables. *Journal of Chemical Education*. p 315-334.
168. Mišurcová L, Buňka F, Ambrožová JV, Machů L, Samek D, Kráčmar S. 2014. Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. *Food chemistry* 151:120-125.
169. Mizubuti IY, Júnior OB, de Oliveira Souza LW, Ida EI. 2000. Response surface methodology for extraction optimization of pigeon pea protein. *Food chemistry* 70(2):259-265.

170. Mobin SM, Chowdhury H, Alam F. 2019. Commercially important bioproducts from microalgae and their current applications—A review. *Energy Procedia* 160:752-760.
171. Molino A, Iovine A, Casella P, Mehariya S, Chianese S, Cerbone A, Rimauro J, Musmarra D. 2018. Microalgae characterization for consolidated and new application in human food, animal feed and nutraceuticals. *International journal of environmental research and public health* 15(11):2436.
172. Morançais M, Mouget J-L, Dumay J. 2018. Proteins and Pigments. *Microalgae in Health and Disease Prevention*: Elsevier. p 145-175.
173. Moreira R, Chenlo F, Sineiro J, Sánchez M, Arufe S. 2015. Water sorption isotherms and air drying kinetics modelling of the brown seaweed *Bifurcaria bifurcata*. *Journal of Applied Phycology* 28(1):609-618.
174. Multon J, Savet B, Bizot H. 1980. Fast method for measuring the activity of water in foods. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie= and Food science technology*. agris.fao.org consulté le 25 avril 2016.
175. Mune Mune MA, Minka SR, Mbome IL. 2014. Optimising functional properties during preparation of cowpea protein concentrate. *Food chemistry* 154:32-37.
176. Muzaffar K, Kumar P. 2016. Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology* 291:322-327.
177. Nazari B, Mohammadifar MA, Shojaee-Aliabadi S, Feizollahi E, Mirmoghtadaie L. 2018. Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrasonics sonochemistry* 41:382-388.
178. Ngo-Matip M-E, Pieme CA, Azabji-Kenfack M, Biapa PCN, Germaine N, Heike E, Moukette BM, Emmanuel K, Philippe S, Mbofung CM. 2014. Effects of *Spirulina platensis* supplementation on lipid profile in HIV-infected antiretroviral naïve patients in Yaounde-Cameroon: a randomized trial study. *Lipids in health and disease* 13(1):191-198.
179. Nicoletti M. 2016. Microalgae nutraceuticals. *Foods* 5(3):54-59
180. Nirmala C, Prakash V, Venkataraman L. 1992. Physico-chemical and functional properties of proteins from spray dried algae (*Spirulina platensis*). *Nahrung* 36(6):569-577.
181. Norena-Caro D, Benton MG. 2018. Cyanobacteria as photoautotrophic biofactories of high-value chemicals. *Journal of CO₂ Utilization* 28:335-366.
182. Norsker NH, Barbosa MJ, Vermue MH, Wijffels RH. 2011. Microalgal production--a close look at the economics. *Biotechnology advances* 29(1):24-27.
183. Nunes CA, Alvarenga VO, de Souza Sant'Ana A, Santos JS, Granato D. 2015. The use of statistical software in food science and technology: Advantages, limitations and misuses. *Food Research International* 75:270-280.
184. Nurtama B, Lin J. 2010. Moisture sorption isotherm characteristics of taro flour. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 5(1):1-6.
185. Ogunwolu SO, Henshaw FO, Mock H-P, Santros A, Awonorin SO. 2009. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food chemistry* 115(3):852-858.
186. Oliveira DM, Clemente E, da Costa JM. 2014. Hygroscopic behavior and degree of caking of grugru palm (*Acrocomia aculeata*) powder. *Journal of food science and technology* 51(10):2783-2789.
187. Oliveira E, Rosa G, Moraes M, Pinto L. 2009a. Characterization of thin layer drying of *Spirulina platensis* utilizing perpendicular air flow. *Bioresource technology* 100(3):1297-1303.

188. Oliveira E, Rosa G, Moraes M, Pinto LAdA. 2009b. Moisture sorption characteristics of microalgae *Spirulina platensis*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 26(1):189-197.
189. Onacik-Gür S, Żbikowska A, Majewska B. 2017. Effect of *Spirulina* (*Spirulina platensis*) addition on textural and quality properties of cookies. *Italian Journal of Food Science* 30:1-12.
190. Österlund B, Janson J-C. 1998. A strategic approach to protein purification: Part II. *Science Tools* 3(1):20-22.
191. Packer M. 2009. Algal capture of carbon dioxide; biomass generation as a tool for greenhouse gas mitigation with reference to New Zealand energy strategy and policy. *Energy policy* 37(9):3428-3437.
192. Parimi NS, Singh M, Kastner JR, Das KC, Forsberg LS, Azadi P. 2015. Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. *Frontiers in Energy Research* 3:30.
193. Parimi NS, Singh M, Kastner JR, Das KC, Forsberg LS, Azadi P. 2017. Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. *Advancements in Algal Biofuels Research—Recent Evaluation of Algal Biomass Production and Conversion. Methods of into Fuels and High Value Co-products* 3:68.
194. Pascal G, Mareschi J-P, Contor L, Antoine J-M. 2006. Redécouverte des propriétés fonctionnelles de l'aliment: fondements scientifiques généraux. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 41(1):39-45.
195. Pereira AM, Lisboa CR, Costa JAV. 2018. High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 47 (2018): 187-194.
196. Phong WN, Show PL, Ling TC, Juan JC, Ng E-P, Chang J-S. 2017. Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae—Recent developments and future perspectives. *Algal Research* 31 (2018): 506-516.
197. Phongthai S, Lim S-T, Rawdkuen S. 2016. Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *Journal of Cereal Science* 70:146-154.
198. Pignolet O, Jubeau S, Vaca-Garcia C, Michaud P. 2013. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 40(8):781-796.
199. Pimentel D, Pimentel MH. 2007. Food, energy, and society: CRC press. Boca Raton. 400 P
200. Postma P, Miron T, Olivieri G, Barbosa M, Wijffels R, Eppink M. 2015. Mild disintegration of the green microalgae *Chlorella vulgaris* using bead milling. *Bioresource technology* 184:297-304.
201. Quanhong L, Caili F. 2005. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food chemistry* 92(4):701-706.
202. Raissi S, Farsani R-E. 2009. Statistical process optimization through multi-response surface methodology. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 51(46):267-271.
203. Rakshit M, Moktan B, Hossain SA, Sarkar PK. 2014. Moisture sorption characteristics of wadi, a legume-based traditional condiment. *Journal of food science and technology* 51(2):301-307.
204. Ranjan A, Patil C, Moholkar VS. 2010. Mechanistic assessment of microalgal lipid extraction. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 49(6):2979-2985.
205. Rao Q, Klaassen Kamdar A, Labuza TP. 2016. Storage stability of food protein hydrolysates—a review. *Critical reviews in food science and nutrition* 56(7):1169-1192.

206. Raof B, Kaushik B, Prasanna R. 2006. Formulation of a low-cost medium for mass production of *Spirulina*. *Biomass and bioenergy* 30(6):537-542.
207. Reed R, Warr S, Richardson D, Moore D, Stewart W. 1985. Blue-green algae (cyanobacteria): prospects and perspectives. *Plant and Soil* 89(1-3):97-106.
208. Rocha ÉMdFF, Rodrigues S, Afonso MRA, da Costa JMC. 2014. Mathematical modeling for isotherms of mango pulp powder, obtained by atomization. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences* 4(01):8.
209. Rodrigues RDP, de Castro FC, de Santiago-Aguiar RS, Rocha MVP. 2018. Ultrasound-assisted extraction of phycobiliproteins from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* using protic ionic liquids as solvent. *Algal Research* 31:454-462.
210. Safi C, Charton M, Pignolet O, Silvestre F, Vaca-Garcia C, Pontalier P-Y. 2013. Influence of microalgae cell wall characteristics on protein extractability and determination of nitrogen-to-protein conversion factors. *Journal of Applied Phycology* 25(2):523-529.
211. Safi C, Charton M, Ursu AV, Laroche C, Zebib B, Pontalier P-Y, Vaca-Garcia C. 2014a. Release of hydro-soluble microalgal proteins using mechanical and chemical treatments. *Algal Research* 3:55-60.
212. Safi C, Ursu AV, Laroche C, Zebib B, Merah O, Pontalier P-Y, Vaca-Garcia C. 2014b. Aqueous extraction of proteins from microalgae: effect of different cell disruption methods. *Algal Research* 3:61-65.
213. Sajilata M, Singhal R, Kamat M. 2008. Fractionation of lipids and purification of γ -linolenic acid (GLA) from *Spirulina platensis*. *Food chemistry* 109(3):580-586.
214. Sandoval AJ, Guilarte D, Barreiro JA, Lucci E, Müller AJ. 2011. Determination of Moisture Sorption Characteristics of Oat Flour by Static and Dynamic Techniques with and Without Thymol as an Antimicrobial Agent. *Food Biophysics* 6(3):424-432.
215. Sathe S. 2002. Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology* 22(2):175-223.
216. Sathe S, Deshpande S, Salunkhe D. 1982. Functional properties of winged bean [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC] proteins. *Journal of Food Science* 47(2):503-509.
217. Schlienger J-L. 2014. Besoins nutritionnels et apports conseillés: adultes, femmes enceintes, personnes âgées, sportifs. *Nutrition clinique pratique*: Elsevier. p 43-56.
218. Schlienger J-L. 2016. La supplémentation vitaminique a-t-elle une place en pathologie cardio-métabolique? *Médecine des maladies métaboliques* 10(3):203-209.
219. Schneider UA, Havlík P, Schmid E, Valin H, Mosnier A, Obersteiner M, Böttcher H, Skalský R, Balkovič J, Sauer T. 2011. Impacts of population growth, economic development, and technical change on global food production and consumption. *Agricultural Systems* 104(2):204-215.
220. Schweizer M, Segall KI. 2010. Protein isolation procedures for reducing phytic acid. Google Patents.
221. Schwenzfeier A, Wierenga PA, Gruppen H. 2011. Isolation and characterization of soluble protein from the green microalgae *Tetraselmis* sp. *Bioresource technology* 102(19):9121-9127.
222. Sguera S. 2008. *Spirulina platensis* et ses constituants: intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Thèse Doctorat -Université Henri Poincaré.
223. Shad MA, Nawaz H, Noor M, Ahmad HB, Hussain M, Choudhry MA. 2013. Functional properties of maize flour and its blends with wheat flour: optimization of preparation conditions by response surface methodology. *Pak J Bot* 45(6):2027-2035.

224. Shahbazizadeh S, Khosravi-Darani K, Sohrabvandi S. 2014. Fortification of Iranian traditional cookies with spirulina platensis. *Annual Research and Review in Biology* 7:144-154.
225. Sharma NK, Tiwari SP, Tripathi K, Rai AK. 2011. Sustainability and cyanobacteria (blue-green algae): facts and challenges. *Journal of Applied Phycology* 23(6):1059-1081.
226. Show KY, Lee DJ, Tay JH, Lee TM, Chang JS. 2015. Microalgal drying and cell disruption--recent advances. *Bioresource technology* 184:258-266.
227. Sidorenko, M. Y. (2014). Food Materials. In *Structural Properties of Porous Materials and Powders Used in Different Fields of Science and Technology* Springer, London. pp. (199-219).
228. Simha HV, Pushpadass HA, Franklin ME, Kumar PA, Manimala K. 2016. Soft computing modelling of moisture sorption isotherms of milk-foxtail millet powder and determination of thermodynamic properties. *Journal of food science and technology* 53(6):2705-2714.
229. Simpore J, Kabore F, Zongo F, Dansou D, Bere A, Pignatelli S, Biondi DM, Ruberto G, Musumeci S. 2006. Nutrition rehabilitation of undernourished children utilizing Spiruline and Misola. *Nutrition journal* 5(1):3.
230. Simpore J, Zongo F, Kabore F, Dansou D, Bere A, Nikiema J-B, Pignatelli S, Biondi DM, Ruberto G, Musumeci S. 2005. Nutrition rehabilitation of HIV-infected and HIV-negative undernourished children utilizing spirulina. *Annals of nutrition and metabolism* 49(6):373-380.
231. Slocombe SP, Ross M, Thomas N, McNeill S, Stanley MS. 2013. A rapid and general method for measurement of protein in micro-algal biomass. *Bioresource technology* 129:51-57.
232. Soni RA, Sudhakar K, Rana R. 2017. Spirulina–From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology* 69:157-171.
- 233.
234. Sotiroudis TG, Sotiroudis GT. 2013. Health aspects of Spirulina (Arthrospira) microalga food supplement. *Journal of the Serbian Chemical Society* 78(3):78 (73) 395–405 .
235. Soto-Sierra L, Stoykova P, Nikolov ZL. 2018. Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. *Algal Research* 36:175-192.
236. Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering* 101(2):87-96.
237. Stalikas C, Fiamegos Y, Sakkas V, Albanis T. 2009. Developments on chemometric approaches to optimize and evaluate microextraction. *Journal of Chromatography A* 1216(2):175-189.
238. Staudt PB, Tessaro IC, Marczak LDF, Soares RdP, Cardozo NSM. 2013. A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures: Extension to the GAB model. *Journal of Food Engineering* 118(3):247-255.
239. Stirbet A, Lazár D, Papageorgiou GC. 2019. Chlorophyll a Fluorescence in Cyanobacteria: Relation to Photosynthesis. *Cyanobacteria: Elsevier*. p 79-130.
240. Stone AK, Karalash A, Tyler RT, Warkentin TD, Nickerson MT. 2015. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International* 76:31-38.
241. Suresh Kumar K, Ganesan K, Selvaraj K, Subba Rao PV. 2014. Studies on the functional properties of protein concentrate of Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty - an edible seaweed. *Food chemistry* 153:353-360.
242. Sydney EB, Novak AC, de Carvalho JC, Soccol CR. 2014. Respirometric balance and carbon fixation of industrially important algae. *Biofuels from algae*. Elsevier. p 67-84.
243. Sydney EB, Sturm W, de Carvalho JC, Thomaz-Soccol V, Larroche C, Pandey A, Soccol CR. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource technology* 101(15):5892-5896.

- 244.
245. Sydney EB, Sydney ACN, de Carvalho JC, Soccol CR. 2019. Potential carbon fixation of industrially important microalgae. *Biofuels from Algae*. Elsevier. p 67-88.
246. Tahergorabi R, Hosseini SV. 2017. Proteins, Peptides, and Amino Acids. *Nutraceutical and Functional Food Components*. Elsevier. p 15-38.
247. Tan ES, Ying-Yuan N, Gan CY. 2014. A comparative study of physicochemical characteristics and functionalities of pinto bean protein isolate (PBPI) against the soybean protein isolate (SPI) after the extraction optimization. *Food chemistry* 152:447-455.
248. Tang G, Suter PM. 2011. Vitamin A, nutrition, and health values of algae: Spirulina, Chlorella, and Dunaliella. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences* 1(2).
249. Tao X, Cai Y, Liu T, Long Z, Huang L, Deng X, Zhao Q, Zhao M. 2019. Effects of pretreatments on the structure and functional properties of okara protein. *Food Hydrocolloids* 90:394-402.
250. Timmermann E, Chirife J, Iglesias H. 2001. Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *Journal of Food Engineering* 48(1):19-31.
251. Toğrul H, Arslan N. 2007. Moisture sorption isotherms and thermodynamic properties of walnut kernels. *Journal of Stored Products Research* 43(3):252-264.
252. Tomaselli L. 1997. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* and *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*:1-16.
253. Tunç S, Duman O. 2007. Thermodynamic properties and moisture adsorption isotherms of cottonseed protein isolate and different forms of cottonseed samples. *Journal of Food Engineering* 81(1):133-143.
254. Van Krimpen M, Bikker P, Van der Meer I, Van der Peet-Schwering C, Vereijken J. 2013. Cultivation, processing and nutritional aspects for pigs and poultry of European protein sources as alternatives for imported soybean products. Wageningen UR Livestock Research. Report nr 1570-8616.
255. Vanthoor-Koopmans M, Cordoba-Matson MV, Arredondo-Vega BO, Lozano-Ramírez C, Garcia-Trejo JF, Rodriguez-Palacio MC. 2014. Microalgae and Cyanobacteria Production for Feed and Food Supplements. *Biosystems Engineering: Biofactories for Food Production in the Century XXI*: Springer. p 253-275.
256. Vanthoor-Koopmans M, Wijffels RH, Barbosa MJ, Eppink MH. 2013. Biorefinery of microalgae for food and fuel. *Bioresource technology* 135:142-149.
257. Varghese KS, Radhakrishna K, Bawa AS. 2014. Moisture sorption characteristics of freeze dried whey-grape beverage mix. *Journal of food science and technology* 51(10):2734-2740.
258. Vasquez VR, Braganza A, Coronella CJ. 2011. Molecular thermodynamics modeling of equilibrium moisture in foods. *Journal of Food Engineering* 103(1):103-114.
259. Vermuë M, Eppink M, Wijffels R, Van Den Berg C. 2018. Multi-product microalgae biorefineries: from concept towards reality. *Trends in biotechnology* 36(2):216-227.
- 260.
261. Vernès L, Abert-Vian M, El Maâtaoui M, Tao Y, Bornard I, Chemat F. 2019. Application of ultrasound for green extraction of proteins from spirulina. Mechanism, optimization, modeling, and industrial prospects. *Ultrasonics sonochemistry*. 54, 48-60.
262. Vo T-S, Ngo D-H, Kim S-K. 2015. Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina*. *Handbook of Marine Microalgae*: Elsevier. p 299-308.

263. Vonshak A, Tomaselli L. 2000. Arthrospira (Spirulina): systematics and ecophysiology. *The ecology of cyanobacteria*. Springer. p 505-522.
- 264.
265. Wan D, Wu Q, Kuča K. 2016. Spirulina. *Nutraceuticals*. Elsevier. p 569-583.
266. Wijffels RH, Barbosa MJ, Eppink MH. 2010. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining: Innovation for a sustainable economy* 4(3):287-295.
267. Wolf W, Spiess W, Jung G. 1985. Standardization of isotherm measurements (COST-project 90 and 90 bis). *Properties of water in foods*. Springer. p 661-679.
268. Wu S-H, Ho C-T, Nah S-L, Chau C-F. 2014. Global hunger: a challenge to agricultural, food, and nutritional sciences. *Critical reviews in food science and nutrition* 54(2):151-162.
269. Yang Z, Zhu E, Zhu Z. 2015. Water desorption isotherm and drying characteristics of green soybean. *Journal of Stored Products Research* 60:25-30.
270. Yazdani M, Sazandehchi P, Azizi M, Ghobadi P. 2006. Moisture sorption isotherms and isosteric heat for pistachio. *European Food Research and Technology* 223(5):577-584.
271. Yuliana M, Truong CT, Huynh LH, Ho QP, Ju Y-H. 2014. Isolation and characterization of protein isolated from defatted cashew nut shell: Influence of pH and NaCl on solubility and functional properties. *Food Science and Technology* 55(2):621-626.
272. Zayas JF. 1997a. Oil and fat binding properties of proteins. *Functionality of proteins in food*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 228-259
273. Zayas JF. 1997b. Water holding capacity of proteins. *Functionality of proteins in food*: Springer. Berlin, Heidelberg p 76-133.
274. Zayas JF. 2012. *Functionality of proteins in food*: Springer Science & Business Media. Berlin, Heidelberg. 70 P
275. Zhai J, Li X, Li W, Rahaman MH, Zhao Y, Wei B, Wei H. 2017. Optimization of biomass production and nutrients removal by *Spirulina platensis* from municipal wastewater. *Ecological engineering* 108:83-92.
276. Zhao Q, Selomulya C, Xiong H, Chen XD, Ruan X, Wang S, Xie J, Peng H, Sun W, Zhou Q. 2012. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. *Journal of Cereal Science* 56(3):568-575.
277. Zhou P, Labuza TP. 2007. Effect of Water Content on Glass Transition and Protein Aggregation of Whey Protein Powders During Short-Term Storage. *Food Biophysics* 2(2-3):108-116.
278. Zhu D, Labuza TP. 2010. Effect of cysteine on lowering protein aggregation and subsequent hardening of whey protein isolate (WPI) protein bars in WPI/buffer model systems. *Journal of agricultural and food chemistry* 58(13):7970-7979.
279. Zhu K-X, Sun X-H, Chen Z-C, Peng W, Qian H-F, Zhou H-M. 2010. Comparison of functional properties and secondary structures of defatted wheat germ proteins separated by reverse micelles and alkaline extraction and isoelectric precipitation. *Food chemistry* 123(4):1163-1169.
280. Zouari N, Abid M, Fakhfakh N, Ayadi M, Zorgui L, Ayadi M, Attia H. 2011. Blue-green algae (*Arthrospira platensis*) as an ingredient in pasta: free radical scavenging activity, sensory and cooking characteristics evaluation. *International journal of food sciences and nutrition* 62(8):811-813.

Annexes

Résumé des articles

Research Article

Adsorption Isotherm, Non-solvent Water and Heat Sorption of

Spirulina platensis

·Nabil Boukhari, ²Amel Doumandji, ¹Feriel Sabrine Ait Chaouche and ¹Ali Ferradji

·Department of Food Technology, National School of Agronomy, Hassen Badi, El Harrach, Algiers, Algeria

·Laboratory of Vegetable Biotechnology, Department of Agricultural Sciences, Faculty of Agro-Veterinary, University of Blida1,

09000 Blida, Algeria

Abstract

Background and Objective: Spirulina powder, rich in proteins and polysaccharides, is characterized by a high hygroscopy. Its stability depends on water behavior during storage. The aim of this study is to investigate the sorption isotherm and thermodynamic properties in order to determine non-solvent water and optimal storage conditions. **Materials and Methods:** Water sorption isotherm of *Spirulina platensis* was assessed by gravimetric method at 25 and 40°C. Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) equation parameters were determined by direct non-linear regression. Non-solvent water was evaluated using sorption isotherm curve. Clausius-Clapeyron equation was used to study the variation of isosteric heat versus water content. **Results:** The values of monolayer moisture content of *Spirulina platensis* determined at 25 and 40°C were respectively 6.06 and 3.94%. The maximum non-solvent water bound by Spirulina powder was 0.135 g H₂O/g. The maximum value of isosteric heat of sorption was evaluated at 60 kJ mol⁻¹. The values of parameter)H_i which are 6.86 kJ mol⁻¹ at 25°C and 27.34 kJ mol⁻¹ at 40°C confirm that water molecules are strongly bound to proteins molecules. **Conclusion:** The results of this study let us to conclude that *Spirulina platensis* powder could be stored properly at water activity of 0.33 and moisture content of 6%.

Key words: *Spirulina platensis*, adsorption, non-solvent water, thermodynamics, heat of sorption

Citation: Nabil Boukhari, Amel Doumandji, Feriel Sabrine Ait Chaouche and Ali Ferradji, 2018. Adsorption isotherm, non-solvent water and heat sorption of *Spirulina platensis*. Am. J. Food Technol., 13: 17-22.

Corresponding Author: Ali Ferradji, Department of Food Technology, High National School of Agronomy, Algiers, Algeria Tel: +213 771 730327

Copyright: © 2018 Nabil Boukhari et al. This is an open access article distributed under the terms of the creative commons attribution License, which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Competing Interest: The authors have declared that no competing interest exists.

Data Availability: All relevant data are within the paper and its supporting information files.

Effect of ultrasound treatment on protein content and functional properties of Spirulina powder grown in Algeria

Nabil Boukhari^{a,*}, Amel Doumandji^{a,b}, Ferial Sabrine Ait chaouche^{a,*} and Ali Ferradji^a

^aLaboratory of Human Nutrition and Food Technology, National School of Agronomy,

Hassen Badi, El Harrach, Algiers

^bDepartment of Food-Processing, Faculty of Nature and Life Science, University of Blida1, Blida, Algeria

Received 4 April 2018

Accepted 3 June 2018

Abstract.

BACKGROUND: There is an important interest to research new protein sources. In this context, Microalgae, particularly Spirulina (*Arthrospira platensis*), seems to be a good alternative due to its wealthy nutritional composition.

OBJECTIVES: The aim of this study is to optimize Spirulina functional properties and to extract protein from whole biomass using (RSM).

METHODS: Ultrasound was used as pre-treatment to optimize functional properties and to extract proteins from Spirulina powder by isoelectric precipitation. The effect of ultrasound and remaining parameters (pH, temperature, solid to liquid ratio and time) was evaluated by Box-Behnken design. The model was fitted by ANOVA analysis.

RESULTS: ANOVA analysis showed a significant model ($p < 0.05$) for functional properties and protein extraction. The protein content of Spirulina powder was found to be 55% (w/w). There is a significant effect of ultrasound on functional properties and protein extraction from Spirulina. The optimum Water Holding Capacity (WHC) was 4.97 g H₂O/g Spirulina powder, obtained at pH 4, 50 W power and 5 min sonication. The optimum Oil Holding Capacity (OHC) is 2.3 g H₂O/g Spirulina powder, it was obtained at 50°C temperature, 70 w power and 10 min sonication.

CONCLUSION: Ultrasound has a significant effect on functional properties and protein extraction from Spirulina. *Arthrospira platensis* grown in Algeria could be incorporated in foodstuff as natural supplement to improve nutritional value and consumer acceptability.

Keywords: *Arthrospira platensis*, Ultrasound, Water holding capacity, Oil holding capacity, Protein content

Figures

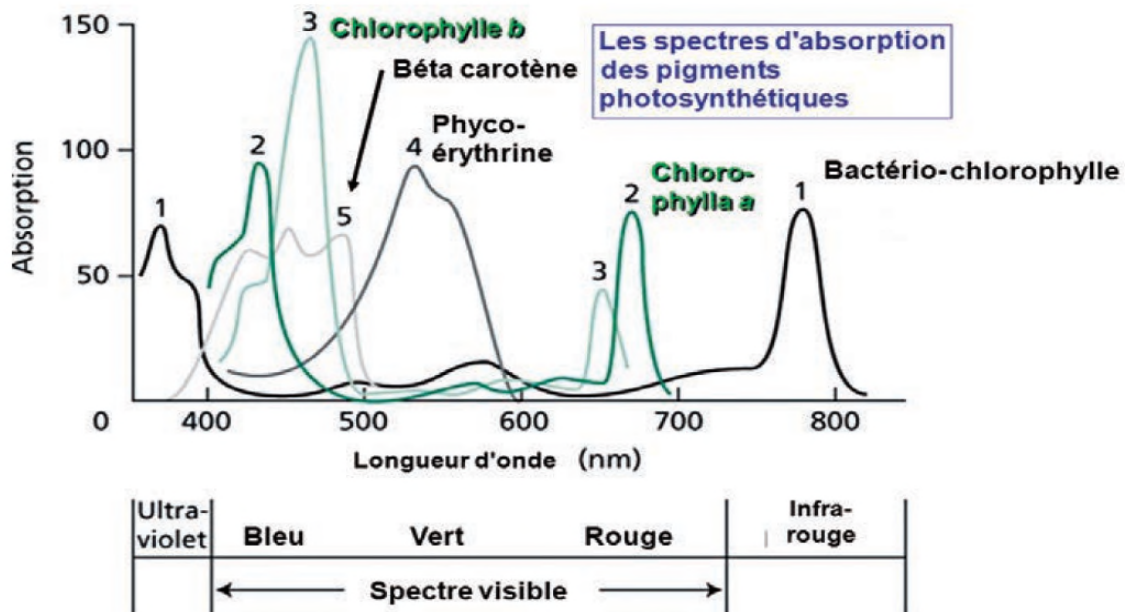


Figure 1. Spectre d'absorption des pigments photosynthétique.

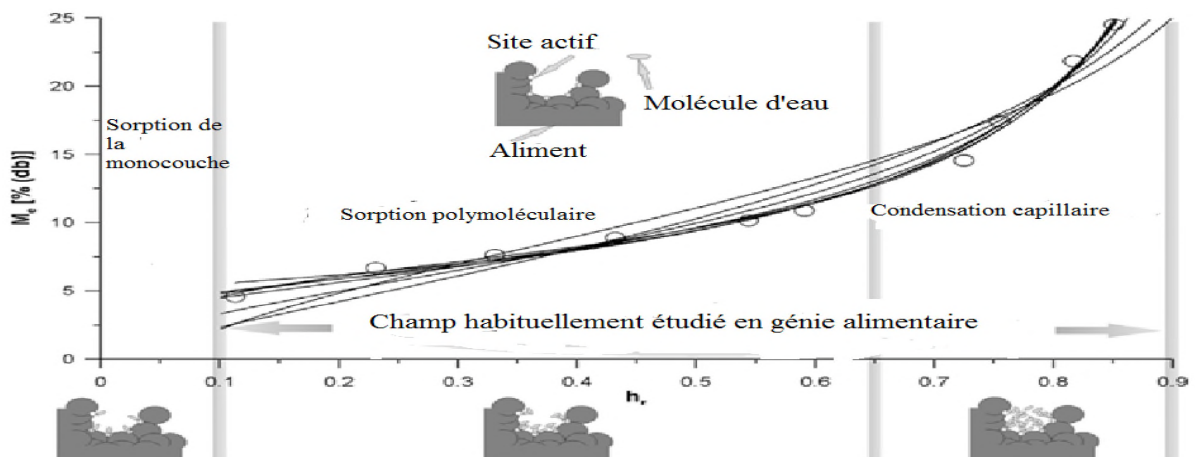
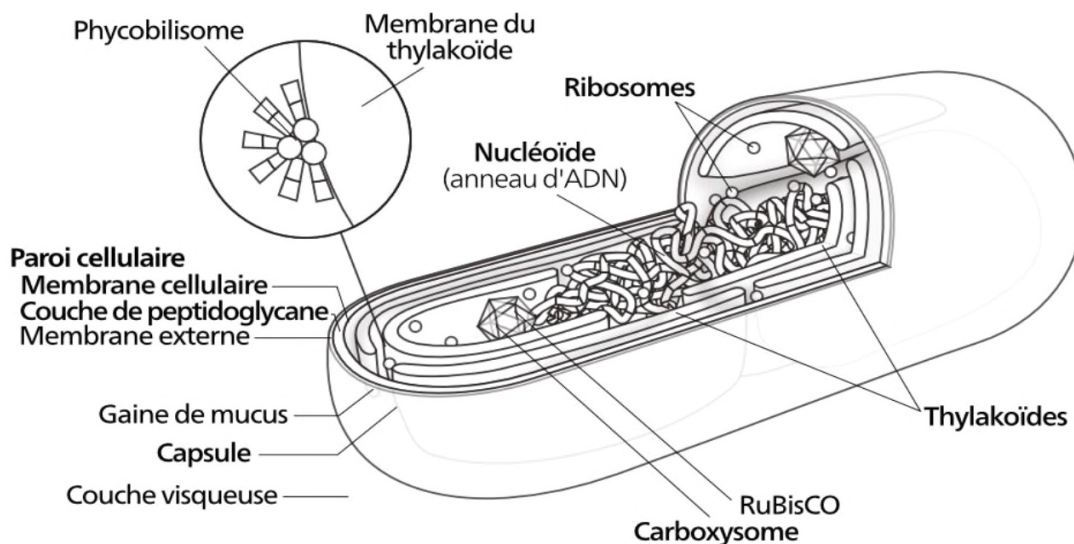


Figure 2. Représentation schématique des trois phases d'absorption d'eau dans le cas des isothermes de type 2.

Source : (Furmaniak *et al.*, 2009)



Source : (Goulambasse , 2018)

Figure 6. Ultrastructure de la paroi cellulaire de la spiruline.

Source :

L'organisation cellulaire de *Spirulina platensis*, observée par microscopie électronique, est typique de celle des organismes procaryotes, étant dépourvu de morphologie limitée noyau et de plastides et affichant une enveloppe de type Gram négatif externe, la paroi cellulaire. Les trichomes sont entourés d'une fine gaine diffuse. La gaine a une épaisseur d'environ 0,5 μm et présente une structure en forme de filet fibrillaire. Le matériau de la gaine, excrété à travers les pores situés sur la paroi cellulaire, amène à penser son implication dans le mouvement du filament.

La paroi cellulaire multicouche est mince, environ 40-60 nm, et possède une couche dense aux électrons qui est facilement détectable, correspondant au peptidoglycane. Les parois transversales sont régulièrement espacées et divisent le trichome en cellules, reliées par des plasmodesmes, elles sont formées par la croissance centripète et l'extension du peptidoglycane de la couche interne de la paroi cellulaire vers le centre de la cellule. Ainsi, les parois transversales forment une structure tripartite. Juste au-dessous de la paroi cellulaire se trouve

la membrane plasmique, entourant le cytoplasme, riche en inclusions subcellulaires typiques des cyanobactéries. Ces inclusions ont un arrangement précis et une distribution à l'intérieur le cytoplasme. La région périphérique de la cellule est caractérisée par un cytoplasme à faible densité électronique, principalement rempli de granules de poly glucane et de gaz vacuoles. Les zones dépourvues de thylakoïdes à faible densité électronique sont remplies de ribosomes et de fibrilles d'ADN. De petites gouttelettes lipidiques opaques aux électrons sont dispersées parmi les faisceaux de thylacoïdes et dans les zones sans thylacoïdes (**Tomaselli, 1997; Vonshak et Tomaselli, 2000**).

Tableau

Tableau 1. Valeur de l'activité de l'eau de la solution d'acide sulfurique en fonction de la concentration et de la température.

Concentration (% volume/volume)	a _w 25 °C	a _w 40 °C
10	0,94	0,95
25	0,81	0,83
40	0,56	0,67
50	0,35	0,36
60	0,16	0,17
70	0,04	0,04
80	0,005	0,006
90	0,0003	0,0005

Source : (Multon *et al.*, 1980)

Résumé

Le but de cette étude est d'optimiser les propriétés fonctionnelles de la spiruline, d'en extraire les protéines en utilisant la MSR et de déterminer les isothermes de sorption afin de déterminer l'eau non-solvante et les conditions de stockage optimales. Les ultrasons ont été utilisés comme prétraitement dans l'optimisation des propriétés fonctionnelles et l'extraction, par précipitation isoélectrique, des protéines de la poudre de spiruline. L'effet des ultrasons et des autres paramètres (pH, température, rapport solide / liquide et durée) a été évalué après l'établissement d'un plan d'expériences Box-Behnken. Le modèle a été ajusté par l'analyse ANOVA. Les isothermes de sorption d'eau de la spiruline ont été déterminés par la méthode gravimétrique à 25 et 40 °C. Les paramètres de l'équation de Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) ont été déterminés par régression directe non linéaire. L'eau non-solvante a été évaluée en utilisant la courbe des isothermes de sorption. L'équation de Clausius-Clapeyron a été utilisée pour étudier la variation de la chaleur iso stérique en fonction de la teneur en eau.

La teneur en protéines de la spiruline en poudre est de 55% (poids / poids). Les ultrasons ont un effet significatif sur les propriétés fonctionnelles et l'extraction des protéines de la spiruline. La capacité de rétention d'eau optimale était de 4,97 g d'H₂O / g de poudre de spiruline, la capacité de rétention d'huile optimale est de 2,3 g H₂O / g de poudre de spiruline. Les valeurs de teneur en humidité de la monocouche de *Spirulina platensis* déterminées à 25 et 40 °C étaient respectivement de 6,06 et 3,94%. La quantité maximale d'eau non-solvante liée par la poudre de spiruline était de 0,135 g H₂O / g de poudre. La valeur maximale de la chaleur de sorption iso stérique a été évaluée à 60 kJ mol⁻¹. Les valeurs du paramètre ΔH_1 qui sont 6,86 kJ mol⁻¹ à 25 °C et 27,34 kJ mol⁻¹ à 40 °C confirment que les molécules d'eau sont fortement liées aux molécules de protéines la spiruline cultivée en Algérie pourrait être incorporé dans les produits alimentaires en tant que complément pour améliorer la valeur nutritionnelle et l'acceptabilité des consommateurs. Les résultats de cette étude permettent de conclure que la poudre de spiruline peut être correctement stockée avec une activité de l'eau de 0,33 et une teneur en humidité de 6%.

Mots clés : Spiruline, Optimisation, ultrasons, propriétés fonctionnelles, protéines

Abstract.

The aim of this study is to optimize *Spirulina* functional properties and to extract protein from whole biomass using RSM and to investigate the sorption isotherm and thermodynamic properties in order to determine non-solvent water and optimal storage conditions. Ultrasound was used as pre-treatment to optimize functional properties and to extract proteins from *Spirulina* powder by isoelectric precipitation. The effect of ultrasound and other parameters (pH, temperature, solid to liquid ratio and time) was evaluated by Box-Behnken design. The model was fitted by ANOVA analysis. Water sorption isotherm of *Spirulina platensis* was assessed by gravimetric method at 25 and 40°C. Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) equation parameters were determined by direct non-linear regression. Non-solvent water was evaluated using sorption isotherm curve. Clausius-Clapeyron equation was used to study the variation of isosteric heat versus water content

The protein content of *Spirulina* powder was found to be 55% (w/w). There is a significant effect of ultrasound on functional properties and protein extraction from *Spirulina*. The optimum Water Holding Capacity (WHC) was 4.97 g H₂O/g spirulina powder, The optimum Oil Holding Capacity (OHC) is 2.3 g H₂O/g spirulina powder, The values of monolayer moisture content of *Spirulina platensis* determined at 25 and 40°C were respectively 6.06 and 3.94%. The maximum non-solvent water bound by *Spirulina* powder was 0.135 g H₂O/g. The maximum value of isosteric heat of sorption was evaluated at 60 kJ mol⁻¹. The values of parameter ΔH_1 which are 6.86 kJ mol⁻¹ at 25°C and 27.34 kJ mol⁻¹ at 40°C confirm that water molecules are strongly bound to proteins molecules. Ultrasound has a significant effect on functional properties and protein extraction from *Spirulina*. *Arthrospira platensis* grown in Algeria could be incorporated in foodstuff as natural supplement to improve nutritional value and consumer acceptability. After the The results of this study, we can conclude that *Spirulina platensis* powder could be stored properly at water activity of 0.33 and moisture content of 6%.

Keywords: *Spirulina*, Optimization, ultrasound, functional properties, protein.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحسين الخواص الوظيفية للسيرولينا واستخراج البروتين من الكتلة الحيوية باستخدام منهجية RSM وللتحقق من خصائص خط التحاور الحراري وخصائص الديناميكا الحرارية من أجل تحديد الماء غير المذيب وظروف التخزين المثلى. تم استخدام الموجات فوق الصوتية مسبقا كعامل لتحسين الخواص الوظيفية واستخلاص البروتينات من مسحوق سيرولينا عن طريق التساقط الكهربائي. تم تقييم تأثير الموجات فوق الصوتية وغيرها من المعلمات (درجة الحموضة، ودرجة الحرارة ، والنسبة الصلبة إلى السائل والوقت) من خلال تصميم Box-Behnken. تم تركيب النموذج بواسطة تحليل ANOVA. تم تقييم الإمتصاص المياح بالحرارة بواسطة طريقة الجاذبية في 25 و 40 درجة مئوية. تم تحديد معلمات معادلة Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) من خلال الانحدار غير الخطي المباشر. تم تقييم الماء غير المذيب باستخدام منحنى امتصاص المياح بالحرارة. تم استخدام معادلة Clausius-Clapeyron لدراسة التباين في حرارة متساوي الهواء مقابل محتوى الماء.

تم العثور على محتوى البروتين من مسحوق سيرولينا ليكون 55 % (ث / ث). هناك تأثير كبير للموجات فوق الصوتية على الخصائص الوظيفية واستخراج البروتين من سيرولينا. كانت السعة المثلى للاحتفاظ بالمياه هي 4.97 جم H₂O / g من مسحوق سيرولينا. السعة المثلى للاحتفاظ بالزيت هي 2.3 غ H₂O / غ من مسحوق سيرولينا. وكانت قيم محتوى الرطوبة أحادي الطبقة من سيرولينا المحددة في 25 و 40 درجة مئوية على التوالي 6.06 و 3.94 %. كان الحد الأقصى للمياه غير المذابة المرتبطة بمسحوق سيرولينا 0.135 غ H₂O / غ مسحوق سيرولينا. تم تقييم الحد الأقصى لقيمة حرارة الإيزوستري المائية الكثافة تساوي خط من الامتصاص عند 60 كيلو جول مول -1. تؤكد قيم المعلمة ΔH_1 التي تبلغ 6.86 كيلوجول/مول عند 25 درجة مئوية و 27.34 كيلوجول/مول في 40 درجة مئوية أن جزيئات الماء مرتبطة بقوة بجزيئات البروتينات. الموجات فوق الصوتية لها تأثير كبير على الخصائص الوظيفية واستخراج البروتين من. يمكن دمج الفصيلة المفصلية في الجزائر في المواد الغذائية كمكمل طبيعي لتحسين القيمة الغذائية وقبول المستهلك. تسمح نتائج هذه الدراسة باستنتاج أن مسحوق سيرولينا يمكن تخزينه بشكل صحيح في نشاط الماء بنسبة 0.33 ومحتوى الرطوبة بنسبة 6 %.

الكلمات المفتاحية: سيرولينا، تمثيل، الموجات فوق الصوتية ، الخصائص الوظيفية، بروتينات

