



**Université kasdi Merbah Ouargla**  
**Faculté des Sciences Appliquées**  
**Département de Génie Procédés**  
**Domaine: Sciences et Technologie**  
**Filière: Génie de Procédés**



## ***Mémoire de fin d'études***

***En vue de l'obtention du diplôme de Master académique en***

***Génie des Procédés***

**Option: Génie Chimique**

**Présenté par: Amina SALHI & Chafika BOUSSAHA**

**Thème**

---

# **Valorisation de la biomasse algale de l'Algérie : potentialités pharmacologiques**

---

**Soutenue publiquement le : 06/07/2019**

**Devant la commission de jury :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
Mr. Ladjel SEGNI	Professeur	Président
Mr. Ahmed Abdelhafid BEBBA	Professeur	Examineur
M <sup>elle</sup> .Souad ZIGHMI	MCB	Encadreur

**Année universitaire : 2018- 2019**

## *Dédicace*

### *Je dédie ce travail :*

*Qui n'aurait jamais vu le jour  
Sans les soutiens indéfectibles de mon très cher père et la lumière de mes yeux maman qui ont  
jamais cessé de me donner le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.  
Que dieu vous protège pour moi et que la réussite et la chance soient toujours à ma portée pour  
que je puisse vous combler du bonheur.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect,  
mon amour éternel, ma profonde gratitude, ma sincère reconnaissance pour les sacrifices, les  
instructions, et le soutiens que mes quatre chers frères m'ont porté.*

*ABDELKADER, BELKHIR, HAMZA et NOUFEL  
Que Dieu vous garde pour moi et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*À ma chère et sœur binôme SALHI AMINA qui ma aidé et ma supporté pendant les moments  
difficiles. Son entente, Sa sympathie, sa patience étaient la clé de l'organisation. Je suis très  
reconnaissante d'avoir partagé ce travail avec elle.*

*Sans oublier ma sœur HALA REZZAG BEDIDA et ma chérie Hadjer Oulad el mir*

*A Mes nièces DAAS DJIHAD et SOUMIA KADDOURI pour leur présence de tous les  
instants, leur sympathie et leurs encouragements qu'ils m'ont apportée et pour les beaux  
souvenirs.*

*A mon Promotion de Génie Chimique 2018-2019*

*Chafika*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*Qui n'aurait jamais vu le jour  
sans les soutiens indéfectibles de mon très cher père et la lumière de mes yeux maman qui ont  
jamais cessé de me donner le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui.  
Que dieu vous protège pour moi et que la réussite et la chance soient toujours à ma portée pour  
que je puisse vous combler du bonheur.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand respect,  
Mon amour éternel, ma profonde gratitude, ma sincère reconnaissance pour les sacrifices, les  
instructions, et le soutiens que ma chère soeur m'ont porté.*

*Soumeya*

*Que Dieu vous garde pour moi et faire en sorte que jamais je ne te déçoive.*

*Sans oublier mes sœur Zeineb, Chaima, Tassnime, Amina et mes frères A.Mounaim, Younes,  
Aymen, Abdelhamid.*

*À ma chère et sœur binôme Chafika qui m'a aidé et ma supporté pendant les moments difficiles.  
Son entente, Sa sympathie, sa patience étaient la clé de l'organisation. Je suis très  
reconnaissante d'avoir partagé ce travail avec elle.*

*A Mes amis HALA, Aicha et Hajer pour leur présence de tous les instants, leurs  
encouragements qu'ils m'ont apportés et pour les beaux souvenirs.*

*A mon Promotion de Génie Chimique 2018-2019*

*A tous ceux que j'aime.*

*Amina*

## Remerciements

*Avant tout, on remercie, Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Au terme de ce modeste travail nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur **Dr.Souad ZIGHMI** D'avoir dirigé ce travail et de nous faire partager ces connaissances qui ont été très utile et pour ces précieux conseils et orientations.*

*Également ne pas oublier l'aide apporté de la part de monsieur le professeur **Ammar MESSAITFA** qui nous a accueillis dans leur laboratoire.*

*Nous désirons aussi, exprimer nos essentiels remerciements : Le professeur **Ladjel SEGNI**.*

*Un grand merci à Monsieur le Docteur **Goudjil Mohamed Bilal**, pour son aide précieux, les conseils fructueux et les encouragements tout au long de nos travail.*

*Nous remercions sincèrement tous les membres de jury pour avoir accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions aussi M<sup>elle</sup> **Assma Ayachi Omer** et Melle **Siham Meflah** pour nous aider dans ce travail, tous au long de la période de la réalisation de ce travail, et surtout pour leur hommage et leur soutien morale.*

*Mes remerciements vont également à **Dr.Cherbi** du Laboratoire d'analyses médicales Ouargla, et aussi M<sup>elle</sup> **Sabrina**, pour son aide précieuse, les conseils fructueux.*

*Enfin, nous remercie tous ceux qui de près ou de la loin ont contribué à la réalisation de ce travail.*

في إطار تـمـيـن الكـتـلـة الحـيـويـة لـطـحـالـب في الجـزائر، تم تـخـصـيـص هـذه الـدراسـة لـتـقـيـم أنـشـطـة مـضادـات الأـكـسـدة ومـضادـات الجـراثـيم ومـضادـات التـخـنـر لأنـواع مـخـتـلـفـة مـن الطـحـالـب الـتي تم جـمـعـها مـن مـواقـع مـخـتـلـفـة: وـرـقـلة ، الوادي و تمنراست . يـكـرس هـذا العـمـل اسـتـخـراج زـيـوت وسـكـريـات الطـحـالـب مـن جـهـة، ومـن جـهـة أـخـرى دـراسـة أنـشـطـتها الـبيـولـوجـية. تم اسـتـخـراج الـدهـون مـن الطـحـالـب، حـيـث أـظـهـرت نـتـائـج المـردود أن أنـواع *Spiruline* (R1 et R2) غـنيـة بـنسـبـة دـهـون 17%. إلى 30 %.

تم إجـراء تـقـيـم القـدرـة المـضادـة للـبـكـتـيرـيا عـلى أنـواع الطـحـالـب ضـد أربـعة أنـواع مـن الـبـكـتـيرـيا كـشـفـت عـن وـجـود تـأثـير مـضاد للـبـكـتـيرـيا لمـسـتـخـلص *Spirogyra sp* و *Tribonema* ، *Periphyton* عـلى السـلـالـات إـجـابـية الجـرام. النـوع *Spiruline* نشـطـة فـقـط ضـد *Staphylococcus aureus*.

أـظـهـرت دـراسـة النـشـاط المـضاد للـتـخـنـر أن المـسـتـخـلصـات الإـيـثـانـوليـة مـن *Spirogyra Sp* و *Périphyton* و *Tribonema* و *Spiruline R2* لـها تـأثـير كـبـير عـلى المـسـار الخـارجـي (TP) و المـسـار الدـاخـلي (TCK) للـتـخـنـر. الأـجـزاء C ، B ، A مـن هـذه الأنـواع لـها تـأثـير ضـعـيف عـلى المـسـار الخـارجـي (TP). و أـظـهـرت كـذـلك هـذه التجـارب أن TCK للـجـزء (A) مـن *Périphyton* هو الأـعـلى، تـلـيه *Spiruline R2*. كما تـشـير نـتـائـجنا إـلى أن زـيت *Spiruline R1* أـظـهـر أقـوى نـشـاط ضـد الجـذر الحـر DPPH ، يـلـيه عـلى التـوالي نـوعان مـن *Tribonema* و *Spiruline R2*. النـوع *Spiruline R1* لـديـها أكـبر نـشـاط تـثـيـطـي .

**الكلمات المفتاحية** النشـاط المـضاد للـبـكـتـيرـيا، النـشـاط المـضاد للـتـخـنـر، النـشـاط المـضاد للأـكـسـدة

*Spirogyra sp, Périphyton, Spiruline R1, Tribonema, Spiruline R2, TP, TCK.*

---

## Résumé

Dans le cadre de la valorisation de la biomasse algale des côtes Algériens, cette étude se consacre à l'évaluation des activités antioxydantes, antibactériennes, et anticoagulantes des espèces d'algues différentes collectées des sites différents : Ouargla, El oued et Tamanrasset.

Le présent travail est consacré d'une part, à l'extraction des huiles d'algues et l'extraction des polysaccharides, de l'autre part à l'étude de leurs activités biologiques.

Une extraction des lipides a été faite, en effet, l'analyse des résultats, nous indique que les rendements lipidiques des espèces *Spiruline* (R1 et R2) riches de 17% à 30%. L'évaluation du pouvoir antibactérien est faite pour des cinq algues contre quatre bactéries révélées un effet bactéricide de l'extrait de *Spirogyra* sp et *Tribonema*, *Périphyton* sur les souches à Gram positif, l'espèce *Spiruline* active seulement contre *Staphylococcus aureus*.

L'étude de l'activité anticoagulante a été également effectuée, les résultats obtenus montrent que les extraits éthanoliques de *Spirogyra* sp, *Periphyton*, *Tribonema* et *Spiruline R2* ont une grande action sur la voie extrinsèque (TP) et la voie intrinsèque (TCK) de la coagulation. Les fractions A, B, C de ces espèces ont une faible action sur TP de la coagulation. Les résultats de ces tests ont montré que TCK de la fraction (A) de *Periphyton* est le plus élevé, suivi par *Spiruline R2*, aussi nos résultats indiquent que l'huile de *Spiruline R1* est la plus forte activité anti-radicalaire contre le radical DPPH, suivi respectivement par celles de deux espèces de *Tribonema* et *Spiruline R2*. L'espèce de *Spiruline R1* présente l'activité réductrice la plus importante.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, activité anticoagulante, activité antioxydante, *Spirogyra* sp, *Periphyton*, *Spiruline R1*, *Tribonema*, *Spiruline R2*, TP, TCK.

**Abstract**

In the framework of the valorization of the algal biomass from Algeria. This study focuses on the evaluation of the antioxidant, antibacterial and anticoagulant activities of different species of algae collected from different sites : Ouargla, El oued, Tamanrasset. The present work is devoted on the one hand, to the extraction of algae oils and the extraction of polysaccharides, and on the other hand, studies of their biological activities.

an extraction of lipids was done, the yield results show that *Spirulina* (R1 and R2) is rich in lipid content from 17% to 30%. The evaluation of the antibacterial power is made on the five algae against four bacteria which revealed a bactericidal effect of the extract of *Spirogyra sp*, *Tribonema*, and *Periphyton* on Gram positive strains. *Spirulina* active only against *Staphylococcus aureus*.

The study of the anticoagulant activity has shown that the ethanolic extracts of *Spirogyra sp*, *Periphyton*, *Tribonema* and *Spirulina* R2 have a great action on the extrinsic pathway (TP) and the intrinsic pathway (TCK) of coagulation. Fractions A, B, C of these species have a weak action on TP coagulation. The results of these tests showed that TCK of *Periphyton* fraction (A) is highest, followed by *Spirulina* R2, also our results indicate that *Spirulina* oil R1 showed the strongest anti-radical activity against the DPPH radical, followed respectively by those of two species of *Tribonema* and *Spirulina* R2. *Spirulina* species R1 also has the most important reductive activity.

**Key words:** Antibacterial activity, anticoagulant activity, antioxidant activity, *Spirogyra sp*, *Periphyton*, *Spirulina* R1, *Tribonema*, *Spirulina* R2, TP, TCK.

## SOMMAIRE

Sommaire .....	I
LISTE DES FIGURES .....	V
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
LISTE DES ANNEXES .....	VIII
Liste des abréviations .....	IX
Introduction générale.....	1

### Chapitre I: Etude bibliographique

I. 1. Introduction.....	4
I. 2. Données bibliographiques sur les algues : .....	4
I.2.1. Définition : .....	4
I. 2. 2. Les bases de la classification :.....	5
I. 2. 3. Les grands groupes des algues : .....	5
I. 2. 3. 1. Les algues vertes (Chlorophycées) .....	6
I. 2. 3. 2. Les algues brunes (Phéophycées) .....	7
I. 2. 3. 3. Les algues rouges (Rhodophycées) .....	7
I. 2. 3. 4. Les algues bleues (cyanobactéries ou cyanophytes).....	7
I. 2. 4. Habitat et conditions de vie.....	7
I. 2. 4. 1. Habitat des algues .....	7
I. 2. 4. 2. Conditions de vie des algues .....	8
I. 2. 5. Composition chimique des algues.....	8
I. 2. 5. 1. La fraction minérale.....	8
I. 2. 5. 2. Les lipides.....	8
I. 2. 5. 3. Les protéines.....	8
I. 2. 5. 4. Les polysaccharides .....	9
I. 2. 5. 5. Les vitamines .....	9
I. 2. 5. 6. Les fibres .....	10



I. 2. 5. 7. Les caroténoïdes .....	10
I. 2. 5. 8. Les polyphénols .....	10
I. 2. 6. Reproduction des algues.....	10
I. 2. 7. Utilisations des algues .....	10
I. 2. 7. 1. Alimentation humaine .....	11
I. 2. 7. 2. Utilisations médicales.....	11
I. 2. 7. 3. Cosmétique .....	11
I. 2. 7. 4. Énergie.....	12
I. 2. 7. 5. Environnement.....	12
I. 3. Conclusion .....	12

## **Chapitre II: Potentialités pharmacologiques**

II. 1. Introduction .....	14
II. 2. Activités d'orientation et dépistage pharmacologique .....	14
II. 2. 1. Activité antibactérienne .....	14
II. 2. 1. 1. Généralité : .....	14
II. 2. 1. 2. Souches microbiennes utilisées dans la présente étude.....	15
II. 2. 2. Activité anticoagulante .....	18
II. 2. 2. 1. Les anticoagulants .....	18
II. 2. 2. 2. Coagulation .....	18
II. 2. 2. 3. Activité anticoagulante par les algues .....	19
II. 2. 3. Activité antioxydante .....	19
II. 2. 3. 1. Les antioxydants.....	19
II. 2. 3. 1. 2. Mécanisme d'action des antioxydants.....	19
II. 2. 3. 1. 3. Types des antioxydants .....	19
II. 2. 3. 1. 4. Classification des antioxydants .....	20
II. 3. Conclusion .....	21

## **Chapitre III: Partie pratique**

III. 1. Introduction .....	23
III. 2. La récolte : .....	24
III. 3. Identification des algues .....	25
III. 4. Conservation des échantillons .....	26
III. 5. Extraction d'huiles d'algues .....	26
III. 5. 1. Extraction au Soxhlet .....	26
III. 5. 1. 1. Matériels et produits utilisés .....	27
III. 5. 1. 2. Caractéristiques de n-hexane .....	28
III. 5. 1. 3. Mode opératoire .....	28
III. 5. 1. 4. Rendement d'extraction.....	29
III. 5. 1. 5. Résultats et discussions.....	30
III. 6. Extraction des polysaccharides .....	31
III. 6. 1. Les Polysaccharides sulfatés .....	31
III. 6. 2. Matériels et produits utilisés.....	31
III. 6. 3. Mode opératoire.....	31
III. 7. Activités biologiques :.....	34
III. 7. 1. Activité antibactérienne .....	34
III. 7. 1. 1. Tests d'activités antimicrobiennes .....	34
III. 7. 1. 2. Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne .....	34
III. 7. 1. 3 Résultats et discussions.....	36
III. 7. 2. Activité anticoagulante .....	38
III. 7. 2. 1. Préparation du plasma humain.....	38
III. 7. 2. 2. Temps de Cephaline kaolin (TCK) .....	39
III. 7. 2. 3. Taux de prothrombine (TP) .....	40
III. 7. 2. 4 Résultats et discussions.....	41
III. 7. 3 Activité antioxydante.....	43
III. 7. 3. 1 Méthode de piégeage de radical libre DPPH .....	43
III. 7. 3. 2 Mode opératoire .....	44

III. 7. 3. 3 Résultats et discussions.....45

III. 8. Conclusion :.....46

Conclusion générale .....48

Références .....51

Annexes.....58

**LISTE DES FIGURES**

<b>Numéro de figure</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>Page</b>
<b><u>Chapitre I</u></b>		
Figure I. 1:	photo présentée la forme de microalgue ( <i>Chlorella</i> ) sous microscope .....	4
Figure I. 2:	les grands groupes des algues marines et leurs classifications. ....	6
Figure I. 3 :	Quelques algues vertes et rouges riches en vitamine B12. ....	9
<b><u>Chapitre II</u></b>		
Figure II. 1 :	<i>Escherichia coli</i> au microscope .....	15
Figure II. 2 :	<i>Staphylococcus aureus</i> au microscope .....	16
Figure II. 3 :	<i>Streptococcus</i> au microscope .....	17
Figure II. 4:	<i>Salmonella</i> au microscope.....	18
<b><u>Chapitre III</u></b>		
Figure III. 1 :	Carte d'Algérie représente les régions de récolte des algues étudiées. ....	24
Figure III. 2:	Photographies des espèces d'algues récoltées. ....	24
Figure III. 3 :	Les étapes de conservation les espèces d'algues. ....	26
Figure III. 4 :	Montage d'extraction par Soxhlet.....	27
Figure III. 5 :	Formule développée de n- hexane. ....	28
Figure III. 6:	Les étapes d'extraction par Soxhlet. ....	29
Figure III. 7:	Rendement des lipides chez les espèces d'algues étudiées (%). ....	30
Figure III. 8 :	L'extrait éthanolique et fractions (A, B, C). ....	32
Figure III. 9 :	Extraction des polysaccharides. ....	33
Figure III. 10:	Coulage des boites pétri.....	35
Figure III. 11:	Etape d'ensemencement .....	35

<i>Figure III. 12: Incubation à 37C° pendant 24h .....</i>	35
<i>Figure III. 13: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre Escherichia coli. ....</i>	37
<i>Figure III. 14: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre Staphylococcus aureus.....</i>	37
<i>Figure III. 15: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre Streptococcus. ....</i>	38
<i>Figure III. 16: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre Salmonella. ....</i>	38
<i>Figure III. 17 : Plasma.....</i>	39
<i>Figure III. 18: Coagulomètre Genrui CA52. ....</i>	40
<i>Figure III. 19: Test TP et TCK. ....</i>	41
<i>Figure III. 20: Taux de prothrombine des extraits éthanoliques et les fraction (A, B, C). ....</i>	41
<i>Figure III. 21: Temps de céphaline kaolin des extraits éthanoliques et les fractions (A, B, C). ....</i>	42
<i>Figure III. 22: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....</i>	43
<i>Figure III. 23: La préparation et les résultats de l'activité antioxydante.....</i>	44
<i>Figure III. 24: Activité anti-radicalaire des huiles d'algues de Spiruline R2, Tribonema, Spiruline R1. ....</i>	45

**LISTE DES TABLEAUX**

<i>Numéro de tableau</i>	<i>Titre de tableau</i>	<i>Page</i>
<i>Tableau III. 1</i>	<i>: identification d'échantillonnage .....</i>	<i>25</i>
<i>Tableau III. 2</i>	<i>.: Les masses initiale des algues et d'huiles extraite. ....</i>	<i>30</i>
<i>Tableau III. 3</i>	<i>: Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés .....</i>	<i>35</i>
<i>Tableau III. 4</i>	<i>: Activité antibactérienne des huiles d'algues étudiées. ....</i>	<i>37</i>
<i>Tableau III. 5</i>	<i>: Concentration inhibitrice à 50% des huiles d'algues.....</i>	<i>45</i>

**LISTE DES ANNEXES**

<i>Numéro de tableau</i>	<i>Titre de annexes</i>	<i>Page</i>
	<i>Annexe 1: L'appareille utilisée pour l'identification des algues. ....</i>	<i>58</i>
	<i>Annexe 2: Les appareilles et les produits utilisés pour l'extraction des lipides. ....</i>	<i>58</i>
	<i>Annexe 3 : Activité antibactérienne. ....</i>	<i>60</i>
	<i>Annexe 4: Les appareilles et les produits utilisés pour l'extraction des polysaccharides. ....</i>	<i>61</i>
	<i>Annexe 5: Les analyses physico-chimiques de les fractions (A, B, C) et les extrait éthanoliques .....</i>	<i>64</i>
	<i>Annexe 6: Activité anticoagulante.....</i>	<i>67</i>
	<i>Annexe 7 : Préparation des réactifs .....</i>	<i>70</i>
	<i>Annexe 8: Activité antioxydante. ....</i>	<i>70</i>
	<i>Annexe 9: Les analyses physico-chimiques de milieu de culture des algues. ....</i>	<i>71</i>

## Liste des abréviations

**PH** : Potentiel d'hydrogène.

**MH** : Muller Hinton

**GN** : Gélose nutritive

**h** : Heure.

**g** : gramme.

**ml** : Millilitre

**G<sup>+</sup>** : Gram positif.

**G<sup>-</sup>** : Gram négatif.

**DPPH** : 2,2-diphenyl -1-picryl hydrazyl.

**TCK** : Temps de céphaline kaolin.

**TP** : Taux de prothrombine.

**S** : Seconde

**V** : Volume

**%** : Pourcentage.

**P** : Poids

**rpm** : Rotation par minute

**TQ** : Temps de Quick

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.

**Ac** : Absorbance du contrôle.

**At**: Absorbance de l'extrait.

**°C**: Degré Celsius

***Spiruline R1***: *Spiruline* Ourgla

***Spiruline R2*** : *Spiruline* Tamnrasset



---

# ***Introduction générale***

---

## **Introduction générale**

Les océans et les mers représentent près des trois-quarts (soit 71%) de la surface du globe. L'environnement marin est un écosystème unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite. Les organismes marins continuent d'être un foyer majeur de nombreux efforts de recherche et une riche source de nouveaux métabolites et une source de produit naturel, de structure unique ayant des activités pharmacologique et biologique. Parmi ces organismes, les algues font preuve d'une incroyable richesse [1-3].

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque [4].

L'Algérie est un pays avec une face maritime s'étalant sur 1200 Km. L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux [5].

La valorisation de la biomasse algale est considérée parmi les programmes internationaux les plus intéressants dans l'exploitation du milieu marin. On effet, les algues ont constitué pour longtemps un grand espoir économique, pour les pays qui en possèdent d'importantes littorales. Elles sont une source importante de polysaccharides (carraghénines, alginates, agars) dont les propriétés physicochimiques, ou stabilisantes intéressent de nombreux secteurs industriels. Leurs propriétés antibiotiques, antivirales et anti-inflammatoires leur confèrent une valeur appréciée en pharmacie et en médecine. Les algues ont déjà une valeur commerciale reconnue dans des domaines variés, tels que : l'alimentation, la cosmétique, la papeterie, le pharmaceutique et la médecine [6-8].

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants.

Etant donné le large éventail d'activités associées aux algues particulièrement antioxydantes et antimicrobiennes et face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. Ainsi, l'exploration du milieu marin Algérien dans ce sens pourrait être d'un grand intérêt.

L'héparine, un polysaccharide hautement sulfaté présent dans les tissus des mammifères, est utilisé comme anticoagulant en laboratoire et en thérapeutique [9], mais celui-ci a quelques inconvénients liés à son extraction, sa purification ainsi que ses effets secondaires à long

terme, c'est pour cela que récemment des médicaments alternatifs à l'héparine sont fortement demandés [10]. En Algérie, il n'existe pas de données et d'études évaluant le potentiel anticoagulant des algues.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de recherche dont l'objectif est la valorisation de la biomasse algale de l'Algérie potentialités pharmacologiques (activité anticoagulation, antibactérienne et antioxydante).

Ce thème comporte trois chapitres, chaque chapitre comprend une introduction et une conclusion, le premier est un chapitre théorique, le deuxième réservé à la méthodologie et le troisième chapitre est pratique, ces chapitres peuvent être résumés et évalués comme suit :

Le premier chapitre est introductif, présente une étude bibliographique. Cette partie assemble plusieurs données sur les algues.

Le deuxième chapitre présente la méthodologie, dans laquelle les différents techniques et les potentialités pharmacologiques utilisées dans cette étude sont présentées.

Le troisième chapitre, est consacrée aux travaux expérimentaux réalisés de ce thème, pour objet l'étude des potentialités pharmacologiques des quelques algues, constitue la continuité des travaux aux laboratoires. Ces travaux ont porté sur l'extraction, l'étude des potentialités pharmacologiques des extraits obtenus, le fractionnement et la purification. Différentes méthodes biologiques et chimiques sont utilisées pour mener à bien ces études.

---

***Chapitre I :***  
***Etude bibliographique***

---

## I. 1. Introduction

Depuis quelques années, la valorisation des algues est une thématique qui prend de l'ampleur. Ainsi, Il ne se passe actuellement pas un jour sans qu'un article ne paraisse sur ce thème, que ce soit dans les énergies renouvelables ou la presse généraliste ou dans la presse spécialisée en environnement [4].

Dans cette partie bibliographique, nous aborderons une axe principaux comporte des données bibliographiques sur les algues.

## I. 2. Données bibliographiques sur les algues :

### I.2.1. Définition :

Lorsque l'on parle de micro-algues ou de macro-algues dans cet ouvrage, il s'agit tout d'abord de rappeler que ces deux termes sont associés à la notion plus générale du terme « algues ».

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle », elles ont des dimensions et des formes très changeable. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs [11].

#### ➤ Les microalgues, ou Phytoplancton :

Ont généralement d'une taille de l'ordre du micron et donc invisibles à l'œil nu [12]. Elles sont des microorganismes aquatiques unicellulaires eucaryotes de forme ellipsoïde ou ronde [13].



*Figure I. 1: photo présentée la forme de microalgue (Chlorella) sous microscope [14].*

#### ➤ Les macro-algues :

Les macroalgues sont au nombre de 25 000 espèces dont seulement 50 sont exploitées à ce jour. Elles possèdent généralement un appareil végétatif clairement distinguable à l'œil nu et sont fixées sur un substrat rocheux à travers des crampons qui sont souvent recouverts de sécrétions

riches en polysaccharides. Ces macroalgues peuvent, elles-mêmes, constituer un substrat pour de nombreuses communautés animales. La partie foliacée du thalle des macroalgues appelée fronde peut être sous forme de filaments, cordons ou lanières [15].

### **I. 2. 2. Les bases de la classification :**

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture [16].

La classification des algues repose sur plusieurs critères, il y a des critères biochimiques comme : la nature des pigments photosynthétiques, la nature des polysaccharides réserve. Autres critères cytologiques comme : structure de noyau, mode de reproduction, complexité structurale, présence et structure de flagelles [17].

### **I. 2. 3. Les grands groupes des algues :**

En général, les algues regroupent quatre groupes (algues vertes, algues rouges, algues brunes, algues bleus) qui sont différenciées par rapport à la couleur, chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces [18].

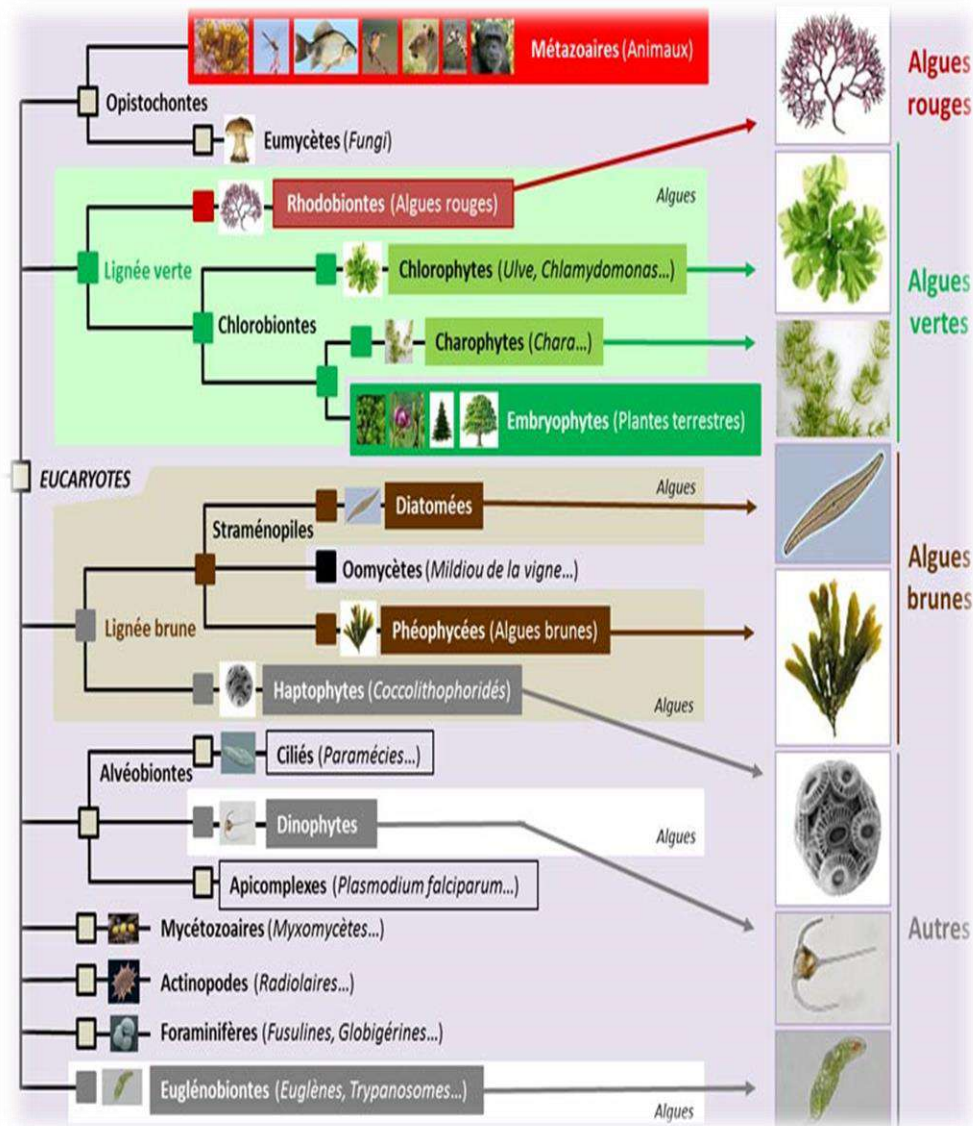


Figure I. 2: les grands groupes des algues marines et leurs classifications [19].

### I. 2. 3. 1. Les algues vertes (Chlorophycées)

Les algues vertes réunissent entre 6000 et 7000 espèces, constituent le plus grand groupe d'algues. Généralement ce sont des espèces d'eau douce. Il y a des espèces marines et des espèces terrestres. Elles sont très répandues dans le monde entier. Elles possèdent deux chlorophylles A et B mais aussi des carotènes et de la xanthophylle. Leurs formes et leurs tailles sont très variables : elles peuvent être microscopiques et unicellulaires, grandes et pluricellulaires. D'autres filamenteuses, se présentent sous la forme d'un tube [20].

Ces algues qui vivent dans des eaux peu profondes sont très sensibles à la pollution organique ou en nitrate. Les algues vertes sont donc connues comme de bons indicateurs de pollution par les nitrates [20].

**I. 2. 3. 2. Les algues brunes (Phéophycées)**

La classe des phéophycées représente les algues brunes proprement dites, avec 1500 espèces allant de quelques millimètres de longueur à plus de 10 mètres.

Les algues brunes possèdent principalement les chlorophylles A et C et d'autres pigments, et ce sont des algues en générale marines. Leur taille et leur abondance leur donne un rôle important dans la végétation marine et dans les zones de balancement des marées. Elles vivent dans les mers froides et tempérées ou elles vivent fixées au fond rocheux. Les algues brunes sont toujours pluricellulaires [20].

**I. 2. 3. 3. Les algues rouges (Rhodophycées)**

Les algues rouges sont le plus souvent des algues marines et leur présence dans les eaux douces se limite à une trentaine de genres peu fréquents. En eau douce, la couleur des Rhodophycées est bleu-vert, rouge-violacé, très souvent vert sale ou vert noirâtre. Elles comprennent environ 500 genres et 5000 espèces presque toutes pluricellulaires. Leurs tailles sont petites (1 à 4 cm). On les rencontre jusqu'à de grandes profondeurs car elles acceptent souvent de se développer dans les conditions de faible éclaircissement, vivant fixées aux rochers ou aux coquilles des mollusques [20].

**I. 2. 3. 4. Les algues bleues (cyanobactéries ou cyanophytes)**

C'est un groupe primitif d'algues et les plus anciennes plantes à chlorophylle. Elles n'ont pas une variable structure cellulaire, on dénombre 150 genres et 2000 espèces. Ces végétaux, ont longtemps été inclus dans les algues et nommés algues bleues en raison, en particulier, de leur habitat aquatique et de leur coloration bleu-vert. Il est actuellement admis que leur ultrastructure de type procaryote, indique une parenté certaine avec les bactéries, justifiant le terme de Cyanobactéries qui leur est désormais appliqué [20].

Les Cyanobactéries correspondent à des organismes unicellulaires ou pluricellulaires, formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer des colonies. Ces colonies de taille, et de forme, de couleur très variable [20].

**I. 2. 4. Habitat et conditions de vie****I. 2. 4. 1. Habitat des algues**

Les algues sont liées à l'eau et peuvent dès lors s'installer dans tous les types d'habitat suffisamment éclairés et humides. On peut les retrouver en eau douce, en mer, sur sol humide et



même sur la neige. Les algues étant photosynthétiques, elles sont dépendantes de la présence de la lumière. Aussi, Les algues nécessitent d'être fixées à un substrat, par conséquent, la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont une importance sur leur écologie [21].

#### **I. 2. 4. 2. Conditions de vie des algues**

Les algues sont des végétaux photosynthétiques, la lumière est un facteur fondamental qui se fait indispensable à leur vie. Cette énergie lumineuse est alors convertie en énergie chimique [22].

La température serait le second facteur physique le plus important mais reste le principal modulateur pour une même disponibilité lumineuse [23].

Les algues nécessitent d'être fixées à un substrat, par conséquent, la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont une importance sur la répartition spatiale des espèces [11].

#### **I. 2. 5. Composition chimique des algues**

##### **I. 2. 5. 1. La fraction minérale**

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux très variés. La teneur en minéraux varie entre 8 et 40%. Cette fraction minérale offre d'abord une grande diversité : macroéléments comme le sodium, calcium, magnésium, potassium, chlore, soufre, phosphore, mais également oligoéléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium, le molybdène, ainsi que bien d'autres oligoéléments comme le fluor, le manganèse, le bore, le nickel, le cobalt [24].

##### **I. 2. 5. 2. Les lipides**

La teneur lipidique est très faible varie de 1 à 5 % chez les macro-algues de la matière sèche. D'un point de vue qualitatif, les lipides algaux présentent une proportion en acide gras essentiels importante. Les algues rouges comme *Palmaria palmata*, *Porphyra* sp contiennent par exemple des taux élevés d'acides gras polyinsaturés à 20 carbones comme l'acide gras eicosapentaénoïque (EPA) oméga 3 ( $\omega 3 - C_{20} : 5$ ) ou l'acide arachidonique ( $\omega 6 - C_{20} : 4$ ) [25].

##### **I. 2. 5. 3. Les protéines**

La teneur en protéines des algues marines est variable. Certaines espèces d'algues rouges possèdent une fraction protéique (30–40 % de la matière sèche) comparable, du point de vue quantitatif, à celle des légumineuses. Les *Porphyra* sp et *Palmaria palmata* sont parmi les

macroalgues les plus nutritifs, avec un contenu de 25 à 50 % de protéines [26]. Le genre *Spirulina* est l'un des plus riches en protéines avec une valeur moyenne de 60% de sa matière sèche [27].

#### I. 2. 5. 4. Les polysaccharides

Les algues constituent des sources importantes de polysaccharides de (33 à 61%) ayant des structures variées et originales, différentes des fibres des végétaux terrestres. Du point de vue nutritionnel, la majorité des polysaccharides algaux sont représentés par des polysaccharides non digestibles, excepté pour l'amidon chez les algues vertes et le floridoside chez les algues rouges [24].

#### I. 2. 5. 5. Les vitamines

La composition vitaminique des algues est très intéressante, malgré de grandes variations saisonnières. Les principales vitamines sont :

**Vitamine C :** la vitamine C est présente en quantités importantes dans certaines algues vertes et brunes [24].

**Vitamine E :** Les algues brunes sont plus riches en vitamine E que les algues vertes et rouges [24].

**Vitamine B12 :** les algues contiennent une proportion non négligeable en vitamine B12, contrairement aux plantes terrestres qui en sont complètement dépourvues. Les travaux les plus récents semblent indiquer que la vitamine B12 des algues est bien bio disponible [24].

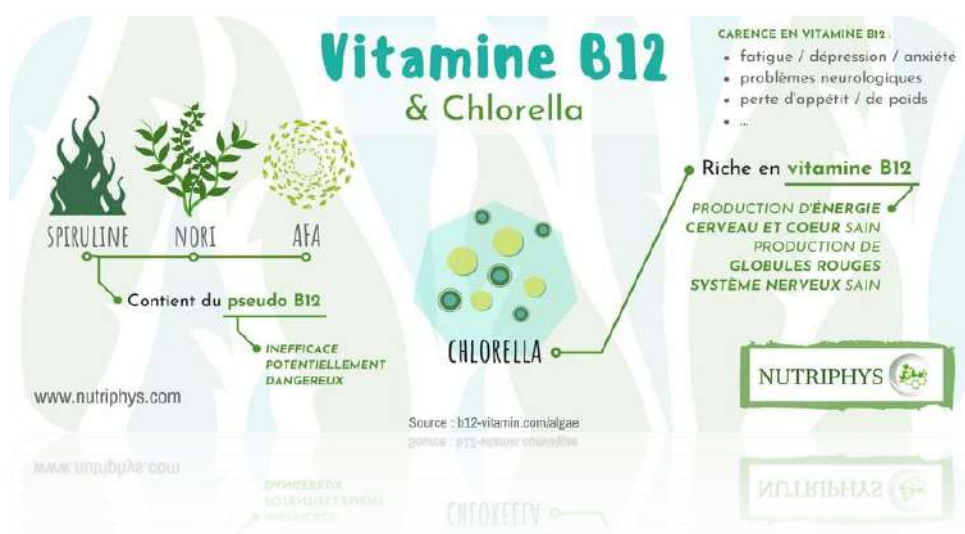


Figure I. 3 : Quelques algues vertes et rouges riches en vitamine B12 [28].

### **I. 2. 5. 6. Les fibres**

Les algues forment une source importante de fibres (de 33 à 61%) qui facilitent le transit intestinal. La fraction de fibres solubles constituée selon l'espèce d'agar-agar, de carraghénane, de xylane, d'alginate, de fucane, de laminarane et d'ulvane, offre un intérêt particulier lié à la nature chimique originale des monomères constitutifs [26].

### **I. 2. 5. 7. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. Les algues brunes sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine,  $\beta$ -carotène et violaxanthine. Les principaux caroténoïdes des algues rouges sont le  $\beta$ -carotène,  $\alpha$ -carotène [24].

### **I. 2. 5. 8. Les polyphénols**

Certaines algues marines contiennent des polyphénols appelés aussi phlorotannins. Ces derniers constituent un groupe très hétérogène de molécules selon leur structure et leur degré de polymérisation, fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes et varient entre 5 et 15% du poids sec [24].

### **I. 2. 6. Reproduction des algues**

Dans de très nombreux cas, la reproduction des algues s'effectue par multiplication végétative. Il s'agit d'une multiplication asexuée qui consiste soit en la division d'une cellule isolée (cas des algues bleues), soit en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques. Elle est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées : les spores [27].

Les algues eucaryotes réalisent en plus une reproduction sexuée au cours de laquelle l'union de deux cellules reproductrices, ou gamètes, produit zygote (un œuf). La reproduction des algues se déroule ainsi selon une alternance de phases de reproduction sexuée, assurée par des thalles producteurs de gamètes (gamétophytes), et de phases de reproduction asexuée assurée par les thalles (sporophytes) [27].

### **I. 2. 7. Utilisations des algues**

Les algues marines ouvrent de nombreuses perspectives pour la recherche et pour de nombreux secteurs économiques, au nombre de cinq : la santé, l'alimentation, les biocarburants de seconde et surtout de troisième génération, l'environnement et l'industrie. A cela, il faut rajouter d'autres activités comme la cosmétique [29].

### **I. 2. 7. 1. Alimentation humaine**

Beaucoup d'algues sont utilisées dans l'alimentation humaine telles que le cas des algues microscopiques : Spiruline, Diatomée et Chlorelle. Pour le cas de la Spiruline, citée à titre indicatif, en raison de sa valeur nutritionnelle très élevée, cette algue bleue est considérée comme l'une des seules sources de protéines non animales. D'autres types de macroalgues peuvent être intégrés dans certains ingrédients alimentaires, comme les pâtes [29].

Environ 75% de la production d'algues produites mondialement (passant de 2 millions de tonnes produites en 1970 à 20 millions en 2010), Cette production est majoritairement destinée à l'alimentation humaine directe [22].

Aujourd'hui, 14 macroalgues et microalgues alimentaires sont autorisées à la vente dans certains pays [24].

### **I. 2. 7. 2. Utilisations médicales**

Au cours des trois dernières décennies, les organismes marins ont ainsi été le centre d'une attention considérable en tant que sources potentielles de nouvelles molécules. Dans ce contexte, les études réalisées ont montré que les algues renferment une grande quantité de molécules d'intérêt médical, dont beaucoup sont connues pour leur application dans la conception de médicaments et biomatériaux. L'agar, les carraghénanes et encore les alginates, sont quelques-unes des molécules les plus utilisées dans des domaines médicaux très divers, comme les anticoagulants, la conception de pansements absorbants, etc. Ces composés sont issus presque exclusivement d'algues brunes, d'algues rouges et de microalgues [30].

### **I. 2. 7. 3. Cosmétique**

L'industrie cosmétique a axé sur les substances bioactives dérivées de substances naturelles des produits tels que les plantes, les métabolites microbiens, les champignons, et algues marines [31].

Aujourd'hui en cosmétique, les algues sont partout, elles sont incorporées dans des produits de maquillage, rouges à lèvres, savons, shampoings, mousses à raser, crèmes hydratantes, etc. L'utilisation des algues vertes dans ce secteur n'est pas encore très développée. Cependant, au vu de leurs propriétés, il est facile d'imaginer les applications potentielles dans les produits de soins personnels [32]

**I. 2. 7. 4. Énergie**

Leurs performances biologiques et la variété des espèces prédisposent les micro-algues à se positionner dans la course aux énergies renouvelables. En effet, les bioénergies, ou les combustibles pouvant être produits à partir des micro-algues couvrent une large gamme allant des composés gazeux comme l'hydrogène et le méthane aux alcools, et aux hydrocarbures liquides conventionnels [4].

**I. 2. 7. 5. Environnement**

L'utilisation des micro-algues dans le secteur de l'environnement s'intègre dans une optique de dépollution avec pour idée de transformer nos déchets en produits, comme par exemple le traitement des eaux usées chargées en nitrates, phosphates, l'épuration d'effluents gazeux contenant du CO<sub>2</sub> [4].

**I. 3. Conclusion**

Dans ce premier chapitre, on a essayé de donner une idée générale sur les algues, et nous avons également détaillé leurs biologies : taxonomie et écologie, aussi leurs utilisations dans plusieurs domaines. On a attaché aussi leurs compositions chimiques, leur reproduction.

---

***Chapitre II :***

***Potentialités pharmacologiques***

---

## II. 1. Introduction

Les algues d'origine marines occupent une place importante en pharmacologie et en médecine, font l'objet d'une exploitation industrielle importante. En effet, plusieurs algues possèdent des actions vermifuge, anticoagulante, cardiotonique, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antivirale.

Les extraits et les molécules biologiquement actives d'origine naturelles occupent aujourd'hui une place prépondérante dans notre société puisqu'elles sont à la base de nombreux principes actifs utilisés en pharmacie.

Le but de cette partie est d'essayer d'exploiter les algues comme sources de molécules pharmaceutiques en étudiant les potentialités pharmacologiques de leurs extraits, selon une gamme d'activités biologiques telles que : activité antibactérienne, activité anticoagulante et activité antioxydante.

## II. 2. Activités d'orientation et dépistage pharmacologique

Les différents extraits obtenus à partir d'algues ont subi la gamme d'activités suivantes :

- ❖ Activités antibactériennes à l'égard de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Streptococcus*.
- ❖ Activité antioxydante.
- ❖ Activité anticoagulante

Ces activités constituent pour nous la base des tests d'orientation et de dépistage.

### II. 2. 1. Activité antibactérienne

#### II. 2 .1 .1. Généralité :

Un microbe, ou micro-organisme, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers d'organismes. Ces organismes sont regroupés sur la base d'une seule propriété : ils sont si petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope. Les microbes sont indispensables à la vie. Parmi leurs nombreux rôles, ils sont nécessaires la fertilité de sols et au cycle géochimique. Ils sont utilisés pour produire des aliments ainsi que des composants pharmaceutiques et industriels. D'un autre côté, ils peuvent être la cause de nombreuses maladies végétales et animales et des contaminations alimentaires. Enfin les microbes sont largement utilisés dans les laboratoires de recherche pour étudier les processus cellulaires [33].

## II. 2. 1. 2. Souches microbiennes utilisées dans la présente étude

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude sont :

### II. 2. 1. 2. 1. *Escherichia coli* :

*Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif, anaérobie facultatif possédant des cils péritriches et flagelles. C'est une bactérie commensale du tube digestif des animaux et de l'homme. La seule présence des populations d'*Escherichia coli* dans l'intestin crée une compétition pour le territoire et les ressources alimentaire, limitant ainsi les invasions par d'autres espèces bactériennes [34].

*Escherichia coli* est 70% mobile et non sporulé et largement utilisées en génie génétique pour l'obtention de l'insuline glargine analogue de l'insuline humaine [35].

### Pouvoir pathogène

Ces souches sont responsables de la diarrhée des voyageurs et de syndromes diarrhéiques cholériformes épidémiques dans les pays du tiers-monde. Ce sont des souches capables d'excréter des toxines (toxines LT et bu ST) [36].

Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives notamment les Salmonelles ou Urinaires ou bien encore des méningites Néonatales [37].

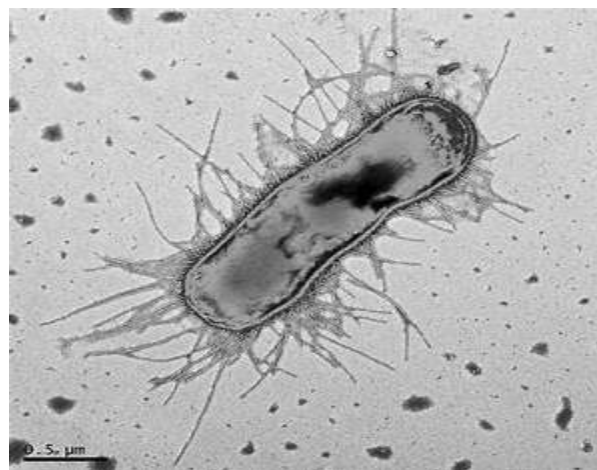


Figure II. 1 : *Escherichia coli* au microscope [38].

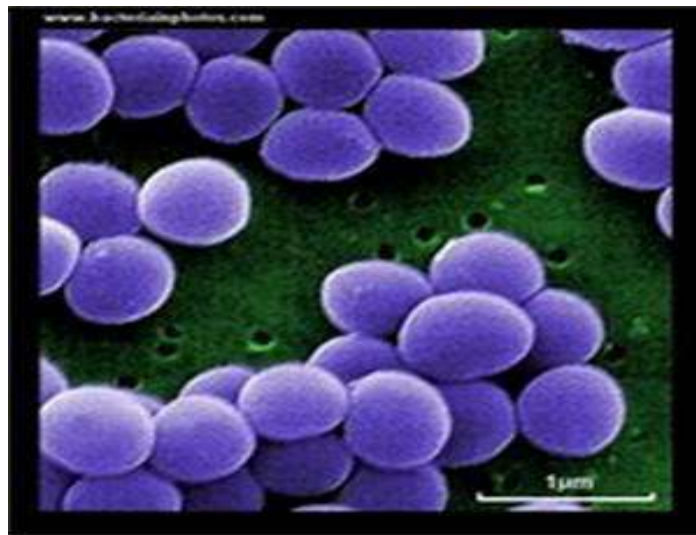


### II. 2. 1. 2. 2. *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est l'un des agents pathogènes les plus importants pour l'homme. Elle est découverte par le Dr Alexander Ogston en 1880. C'est une bactérie anaérobie, à Gram-positif. Elle peut causer de nombreuses maladies ; d'infections cutanées mineures à des maladies mortelles, telles que les abcès, la pneumonie, la méningite, l'endocardite, la septicémie, l'arthrite septique, l'ostéomyélite, infections intra-vasculaires [39].

- **Pouvoir pathogène**

*Staphylococcus aureus* tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles ou associées à la paroi (hémolysines  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ). Elle est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée [36].



**Figure II. 2 :** *Staphylococcus aureus* au microscope [40].

### II. 2. 1. 2. 3. *Streptococcus*

*Streptococcus* est un agent pathogène bactérien humain exclusif à Gram-positif. Le potentiel de virulence de cette espèce est énorme. Les interactions avec les humains vont du portage asymptomatique aux infections bénignes et superficielles de la peau et des muqueuses, en passant par les manifestations systémiques purulentes de la maladie et de la toxicité invasive toute. L'incidence et la gravité des infections à *streptocoques* ont considérablement diminué après l'introduction des antibiotiques (la pénicilline, l'érythromycine et certaines céphalosporines sont tous efficaces contre les organismes) [41].

- **Pouvoir pathogène**

Les *Streptocoques* pathogènes sont responsables d'infections aiguës, ce sont : *S.pneumoniae* ou pneumocoques, *S. pyogenes* ou streptocoques  $\beta$ -hémolytiques du groupe A, *S. agalactiae* ou *streptocoques*  $\beta$ -hémolytiques du groupe B. Parmi les streptocoques, les espèces commensales appartiennent à la flore normale des muqueuses de l'homme. Ce sont les streptocoques oraux et les streptocoques. Dans certaines circonstances ces bactéries commensales deviennent pathogènes opportunistes et peuvent être responsables d'infections, notamment de septicémies ou d'endocardites [42].

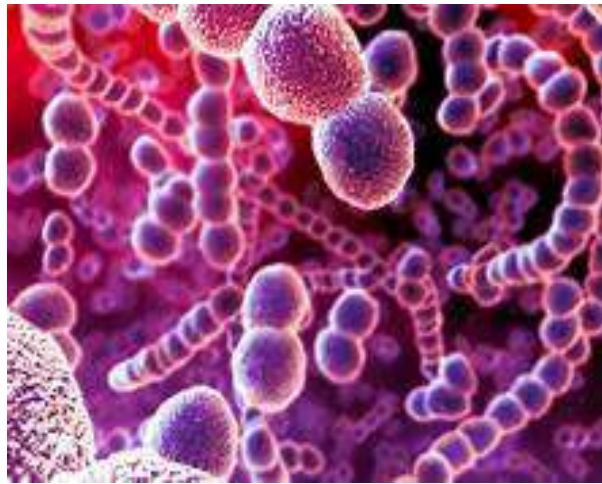


Figure II. 3 : *Streptococcus* au microscope [43].

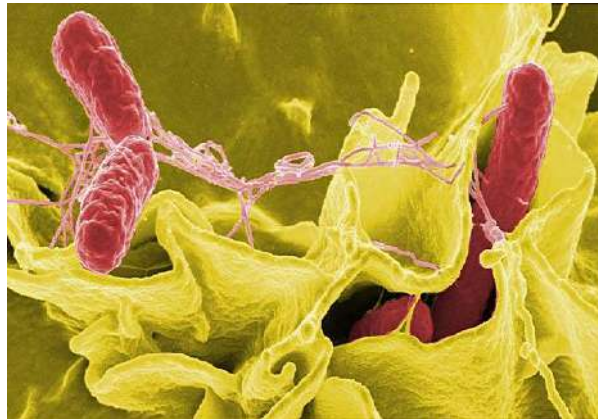
#### II. 2. 1. 2. 4. *Salmonella*

Les salmonelles sont des bactéries anaérobies facultatives à Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement de 2–5 microns de long sur 0,5–1,5 micromètre de large et mobiles par flagelles pérित्रiches. Les salmonelles appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae et constituent un agent pathogène important sur le plan médical pour les humains et les animaux. Les salmonelles forment un groupe complexe de bactéries comprenant deux espèces et six sous-espèces]. Deux espèces sont actuellement reconnues dans les genres *Salmonella*, *S. enterica* et *S. bongori* [44].

- **Pouvoir pathogène**

*Salmonella*, est l'une des causes les plus courantes d'empoisonnement alimentaire. Habituellement, les symptômes durent de 4 à 7 jours et la plupart des gens s'améliorent sans traitement. Cependant, *Salmonella* peut causer une maladie plus grave chez les personnes souffrant de maladies chroniques, des infections et des personnes âgées. La salmonelle est cuite par cuisson et pasteurisation, *Salmonella* est le principal agent pathogène d'origine alimentaire,

Comme beaucoup d'autres maladies infectieuses, l'évolution et le résultat de l'infection dépendent de facteurs variables, notamment la dose d'inoculation et le statut immunitaire de l'hôte [44].



*Figure II. 4: Salmonella au microscope [45].*

## II. 2. 2. Activité anticoagulante

### II. 2. 2. 1. Les anticoagulants

Les anticoagulants restent la principale stratégie de la prévention et le traitement de la thrombose. Non fractionné héparine, héparine de bas poids moléculaire, fondaparinux et warfarine a été étudiée et utilisé intensivement avec les inhibiteurs directs de la thrombine généralement réservés aux patients présentant des complications. Des nouveaux anticoagulants oraux ont émergé du développement clinique et sont censés remplacer les agents plus âgés par leur facilité d'utilisation et profils pharmacodynamiques plus favorables.

L'hémorragie est le principal événement indésirable préoccupant chez tous les anticoagulants. Avec leur utilisation omniprésente, il devient important pour les cliniciens de bien comprendre pharmacologie anticoagulante, toxicité et dosage [46].

### II. 2. 2. 2. Coagulation

La coagulation est le changement qui aboutit à la formation de fibrine nécessaire à la consolidation du clou plaquettaire. Il s'agit d'une séquence de réactions enzymatiques permettant l'activation de facteurs plasmatiques inactifs en protéases actives [47]. Elle est fractionnée en deux voies, la voie intrinsèque extrinsèque, suivie d'une voie commune après l'activation du Facteur X (FX) [48].

### II. 2. 2. 3. Activité anticoagulante par les algues

Les propriétés anticoagulantes des algues ont été découvertes il y a plus de 50 ans, la plupart des composés actifs sont des variétés de polysaccharides sulfatés. Le premier rapport sur l'effet anticoagulant des polysaccharides issus d'algues a été publié en 1936, quand Chargaff et ses collègues ont réussi à extraire les esters des acides sulfuriques et galactane d'Iridae laminarioidespo [49].

Les polysaccharides sulfatés des trois grands groupes d'algues ont des propriétés anticoagulantes, certains composés actifs ont été caractérisés chimiquement, comme le galactane sulfaté et le fucoïdan sulfaté des algues rouges et brunes ainsi que différents sucres sulfatés comme rhamnane et l'arabinane extraits d'algues vertes [50].

### II. 2. 3. Activité antioxydante

#### II. 2. 3. 1. Les antioxydants

##### II. 2. 3. 1. 1. Définition

Un antioxydant tels que les vitamines, les enzymes est défini comme toute substance qui lorsqu'elle est trouvée à des concentrations faibles par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou prévient significativement l'oxydation de ce substrat [51].

##### II. 2. 3. 1. 2. Mécanisme d'action des antioxydants

Les antioxydants peuvent protéger l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives comme suit [52] :

- Augmentation du système de défense du corps.
- Réparation des dommages résultants de radicaux libres.
- Neutralisation des radicaux libres
- Inhibition de la formation des radicaux libres

##### II. 2. 3. 1. 3. Types des antioxydants

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules. Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes ou proviennent de l'alimentation ou la médication et sont donc exogènes [53].

Les antioxydants endogènes sont : *Les antioxydants enzymatiques.*

Les antioxydants exogènes sont : *La vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les composés phénoliques.*

#### **II. 2. 3. 1. 4. Classification des antioxydants**

##### **II. 2. 3. 1. 4. 1. Antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques sont utilisés dans l'industrie alimentaire afin d'éviter l'oxydation des lipides et de conserver les aliments pour le stockage et le transport prolongés vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs car sont efficace et moins chers que les antioxydants naturels dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le BHA, le TBHQ, le THBP, le DTHMP, le PG, l'OG et l'NDGA, sont utilisés dans les cosmétiques et les huiles végétale [53].

Le PG et le BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés. Malgré la puissance de leur activité antioxydante, l'excès de ces antioxydants Synthétiques peut être toxique, responsable de mutagenicités et peut même présenter un danger pour la santé humaine [54].

##### **II. 2. 3. 1. 4. 2. Antioxydants naturels**

Les antioxydants naturels apportés par l'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs. Les effets bénéfiques sur la santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydants présentes par un grand nombre de composés phytochimiques [53].

##### **II. 2. 3. 1. 5. Activité antioxydante in vitro**

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés purs ou d'extraits. La plupart de ces méthodes sont basée sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel [55].

Parmi ces techniques, nous citons : Activité antioxydant par le test FRAP, de piégeage de radical libre DPPH, la méthode de décoloration du bêta-carotène ...ect [55-56].

**II. 3. Conclusion**

Dans cette partie, on a essayé de donner des informations essentielles sur les différentes potentialités pharmacologiques utilisées dans cette étude. On a conclu que les activités : antibactérienne, antioxydante et anticoagulante sont importants dans le domaine pharmaceutique.

---

# *Chapitre III :*

## *Partie pratique*

---



### **III. 1. Introduction**

Dans cette partie expérimentale nous avons présenté deux axes principaux ;

Le premier axe, est consacré à réaliser les analyses suivantes :

- L'extraction des huiles des d'algues étudiées.
- L'extraction des polysaccharides et l'analyse physico-chimiques de ces extraits.
- L'analyse physico-chimiques des eaux des espèces d'algues étudiées.

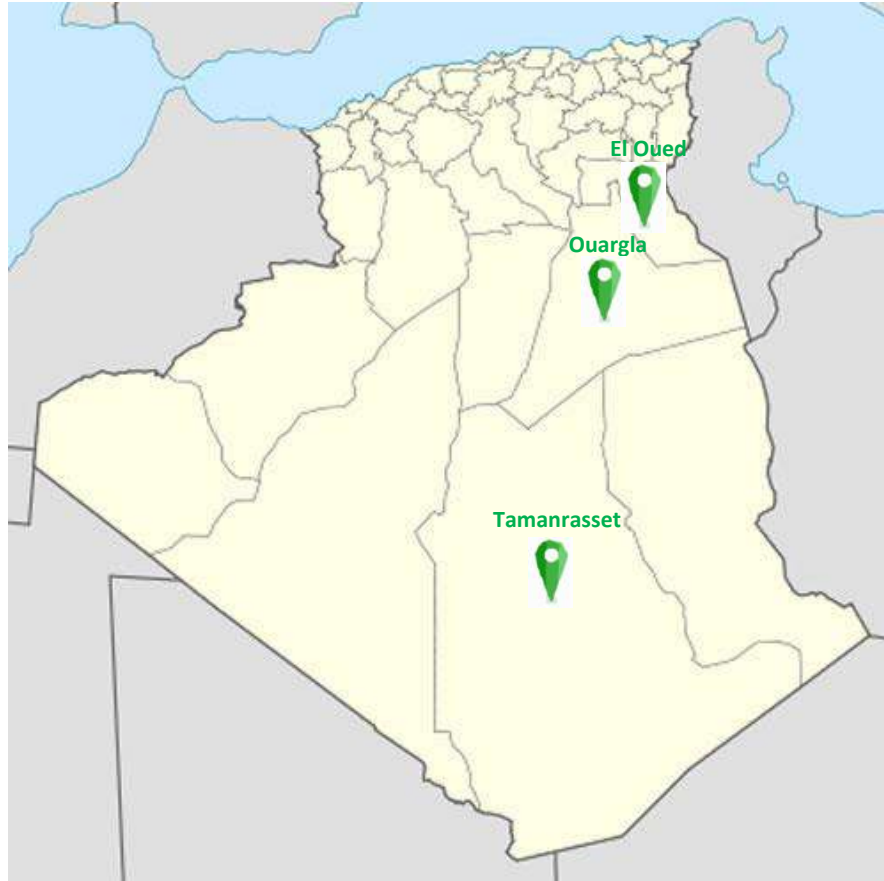
Dans le deuxième axe :

- L'étude du pouvoir antibactérien des extraits des espèces d'algues (extraits Hexanique) par la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.
- L'étude du pouvoir anticoagulant des extraits polysaccharides des espèces d'algues (extraits éthanolique, fractions A, fractions B et fractions C)
- L'étude du pouvoir antioxydant des extraits des espèces d'algues (extraits Hexanique) par la méthode de DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*).



### III. 2. La récolte :

Les algues ont été récoltées des régions au sud d'Algérie figure III.1 (Ouargla, EL.Oued, Tamanrasset), dans la période de (Février 2019).



*Figure III. 1 : Carte d'Algérie représente les régions de récolte des algues étudiées.*

Les espèces d'algues ont été récoltées à partir des bassins d'eau douce et prélever à la main, et ont mis dans des bouteilles en plastique et des flacons en verre remplis d'eau douce (figure III.2).

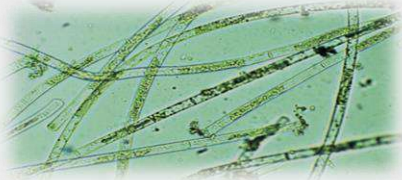
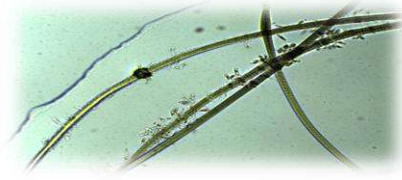
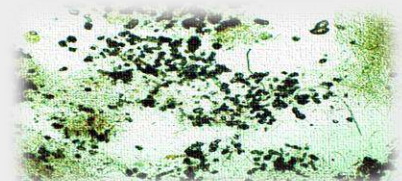
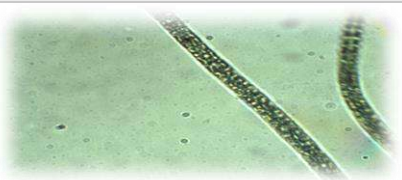
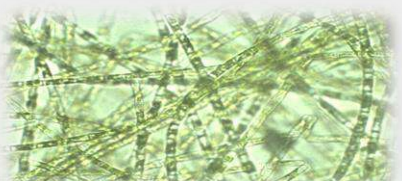


*Figure III. 2: Photographies des espèces d'algues récoltées.*

### III. 3. Identification des algues

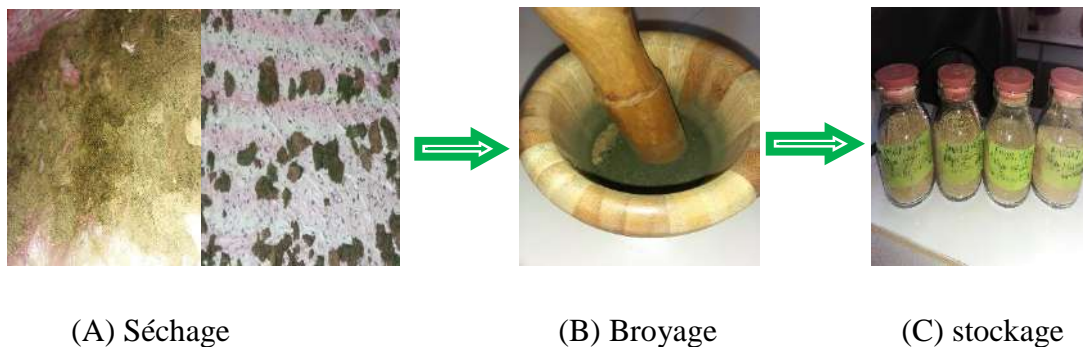
Les algues récoltées sont identifiées par l'observation sous microscope optique au niveau du laboratoire du génie de l'eau et de l'environnement en milieu saharien l'Université de Ouargla et à l'aide des clés d'identification retenues par [60-61] (*Tableau III. 1*).

*Tableau III. 1 : identification d'échantillonnage*

<i>Région d'échantillonnage</i>	<i>Photo au microscope optique</i>	<i>Nom scientifique</i>	<i>La classe</i>
<b>R1-Ouargla</b>		<i>Tribonema</i>	<b>Chlorophyta</b> (Algue verte) Macroalgue
		<i>Spiruline</i>	<b>Cyanobactéries</b>  Microalgue
		<i>Périphyton</i>	<b>Complex d'organismes</b> Macroalgue
<b>R2-Tamanrasset</b>		<i>Spiruline</i>	<b>Cyanobactéries</b> Microalgue
<b>R3-EL.Oued</b>		<i>Spirogyra sp</i>	<b>Chlorophyta</b> (Algue verte) Macroalgue

### III. 4. Conservation des échantillons

Les échantillons sont nettoyés par lavage avec de l'eau du robinet puis à l'eau distillée pour éliminer le sable, les nématodes et toutes autres matières suspendues. Les échantillons sont alors séchés naturellement, à l'abri de la lumière durant trois ou quatre jours (*figure III. 3 A*) Après séchage, les échantillons sont broyés et tamisés (*figure III.3 B*), en suite conservés dans des flacons en verre stérilisés et à l'abri de l'humidité jusqu'à utilisation (*figure III. 3 C*).



*Figure III. 3 : Les étapes de conservation des espèces d'algues.*

### III. 5. Extraction d'huiles d'algues

Dans cette partie on a fait une extraction des lipides de cinq espèces d'algues (*Tribonema*, *Spirulina R1*, *Périphyton*, *Spiruline R2*, *Spirogyra sp*) par Soxhlet.

#### III. 5. 1. Extraction au Soxhlet :

L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité.

L'extraction par l'appareil Soxhlet est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée. Cependant, le Soxhlet possède quelques désavantages comme [59] :

- La possibilité de dégradation des composés à cause d'une sur chauffe locale.
- Le temps d'extraction relativement long.
- Les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants etc...

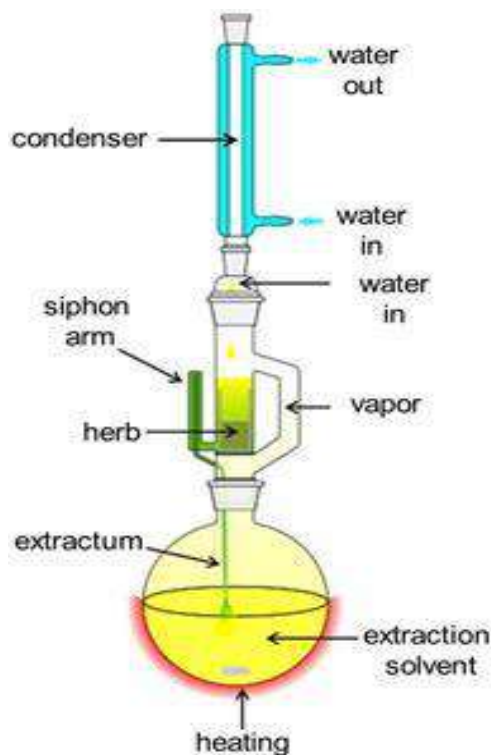


Figure III. 4 : Montage d'extraction par Soxhlet [60].

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. L'extracteur "Soxhlet" permet le traitement de solides avec des solvants en phase liquide. L'extracteur, contenant un support de cartouche qui emplit de solide et relie et fixé sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé et reste en contact avec le solide. La solution est obtenue périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide est toujours mis en contact avec du solvant [61].

### III. 5. 1. 1. Matériels et produits utilisés

Les produits et les matériels qui ont utilisés sont :

- Un montage d'appareil Soxhlet 6 postes.
- Une balance analytique.
- Le solvant (l'hexane).
- Les cartouches.
- Les béchers.
- L'évaporateur rotatif.

### III. 5. 1. 2. Caractéristiques de n-hexane

L'hexane est un alcane non ramifié contenant six atomes de carbone de formule brute  $C_6H_{14}$  (Figure III. 5). Il joue un rôle de solvant non polaire et de neurotoxine. C'est un alcane et un composé organique incolore, volatil, et d'odeur désagréable. Il n'est pas soluble dans l'eau mais miscible par la plupart des solvants organiques. C'est un bon solvant des graisses [62].



Figure III. 5 : Formule développée de n- hexane [63].

### III. 5. 1. 3. Mode opératoire

Tout d'abord on a nettoyé tous les équipements par l'acétone, puis on a réalisé le montage d'extraction de Soxhlet 6 postes, après nous avons rempli les cartouches par une quantité de poudre algue sèche et broyée ( *Figure III. 6 A* ) et mettre les cartouches dans le support de l'appareil, après on a ajouté 200 ml du solvant n-hexane dans chaque béccher puis placer dans le support et allumer le chauffage, le vapeur montant tomber sur les cartouches après le refroidissement avec le condenseur, laisser cette opération plusieurs cycles ( *Figure III. 6 B* ), après l'opération de l'extraction on passe à l'étape d'évaporation pour obtenir les huiles extraites et récupérer le solvant ( *Figure III. 6 C* ) et on a laissé les bouchons des flacons ouverts pendant 24 h ( *Figure III. 6 D* )

### Conditions opératoires de soxhlet 6 postes E816

Phase d'extraction :	Phase de rinçage :	phase de séchage :
Temps :60min.	Temps :5min.	Temps : 20min.
Cycle :02	chauffage : 100%	chauffage :100%
Chauffage :100%		

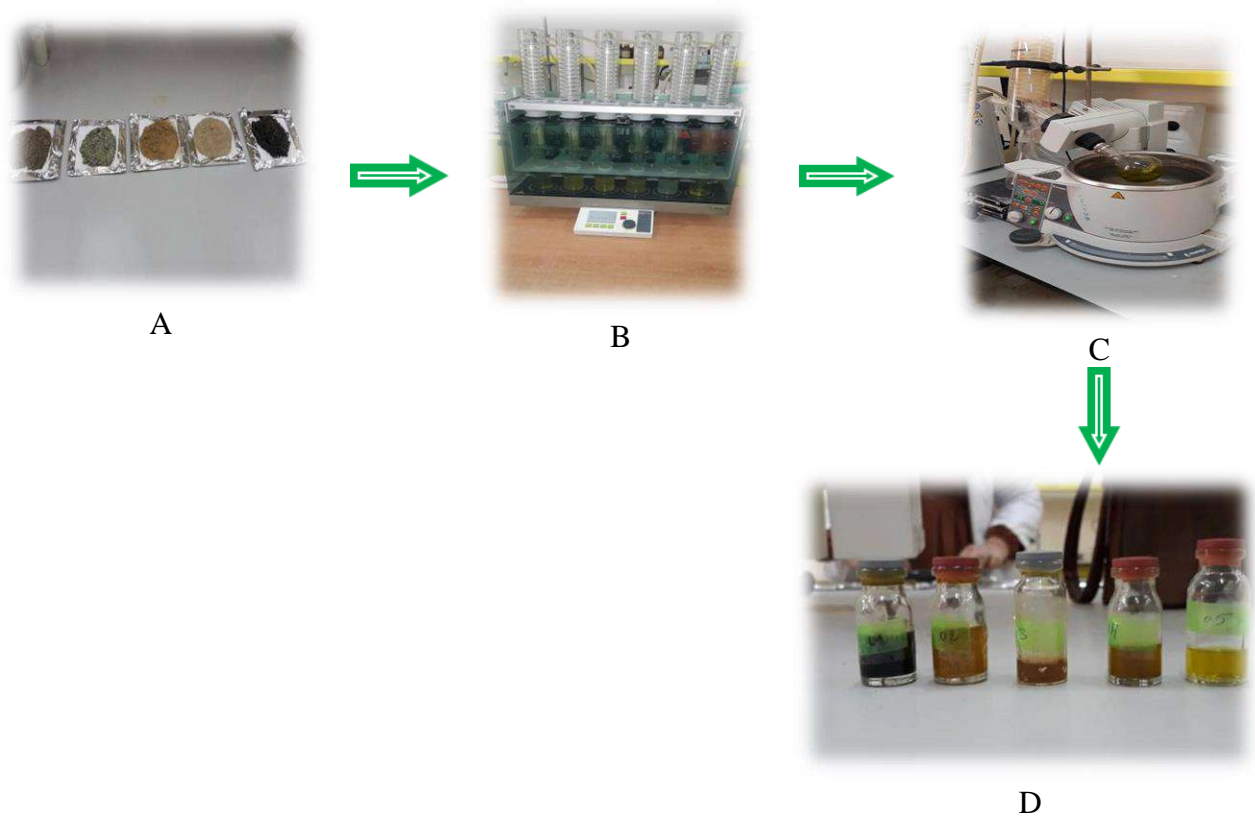


Figure III. 6 : Les étapes d'extraction

#### III. 5. 1. 4. Rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile obtenue et la masse initiale d'algue sèche pour cent (*Tableau III. 2*). Après récupération des huiles, le rendement est calculé selon la formule suivante :

$$Rdt = \frac{\text{masse d'huile extraite}}{\text{masse d'algue initiale}} \times 100$$

*Rdt*: Rendement

Tableau III. 2. : Les masses initiale des algues et d'huiles extraite.

Les espèces d'algues	La masse initiale d'algue g	La masse d'huile extraite g
<i>Tribonema</i>	141.3026	1.442
<i>Spiruline R1</i>	20	3.404
<i>Périphyton</i>	129.5571	1.36
<i>Spiruline R2</i>	28.1194	8.5474
<i>Spirogyra sp</i>	30	0.054

### III. 5. 1. 5. Résultats et discussions

Rendement obtenu concernant les lipides :

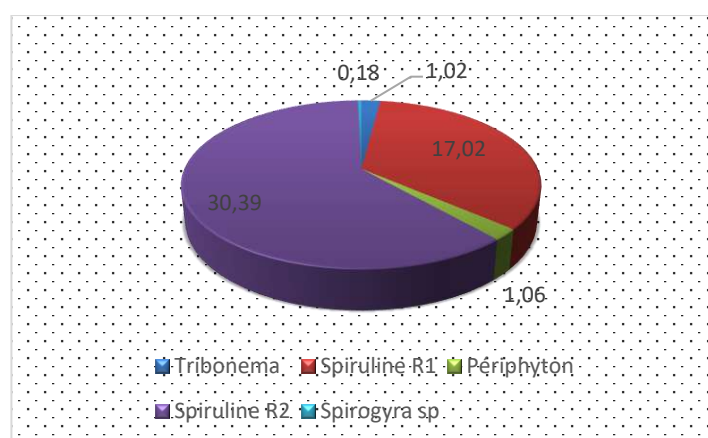


Figure III. 7 : Rendement des lipides chez les espèces d'algues étudiées (%).

Les huiles d'algues ont été extraites à partir des espèces d'algues sèches et broyées. La *Spiruline* de la région de Tamanrasset présente le rendement de lipide le plus élevé (30,39 %), non seulement en comparaison avec les autres types des algues de genre différent mais aussi avec la même espèce d'autre région (Ouargla, 17,02%) ce qui confirme que la région influe fortement la sécrétion de l'huile d'une microalgue *Spiruline*. Selon [64] moins de 33% du rendement d'extraction des lipides a été trouvé pour la spiruline (l'extraction a été réalisée par Soxhlet, solvants (chlorure de méthylène / méthanol)).

*Tribonema*, *Périphyton* et *Spirogyra sp*, ont présenté un faible rendement respectivement de 1,02%, 1.06% et de 0.18%. Selon [65] ont obtenu une teneur en huile de *Spirogyra sp* de 4,24 % notant que l'extraction a été réalisée par hydrodistillation et avec le solvant éther de pétrole.

On note que la *Spiruline* (microalgue), contenant une teneur en lipide important par rapport les autres types des algues étudiées (*Tribonema*, *Périphyton* et *Spirogyra sp*).

Les études de quelque chercheurs montré que le rendement de lipide est variable en fonction de type d'algue utilisée, la technique d'extraction et le type du solvant utilisé [64-66]. Plusieurs facteurs aussi influant sur le rendement comme le milieu de récolte et la période de récolte.

### III. 6. Extraction des polysaccharides

#### III. 6. 1. Les Polysaccharides sulfatés

Les polysaccharides sulfatés sont des macromolécules complexes et irréguliers trouvées à des concentrations supérieures dans les algues [66]. C'est le groupe qui a été identifié comme le plus important économiquement parmi les autres composants trouvés dans les algues, ils ont été considérablement utilisés en industrie à des fin alimentaires et médicinales [67].

#### III. 6. 2. Matériels et produits utilisés

- Un bain -marie.
- L'éthanol à 85%.
- $\text{CaCl}_2$ .
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
- HCl.
- Papier filtre.
- Centrifugeuse.
- Bécher.
- Papier PH.

#### III. 6. 3. Mode opératoire

Dans cette partie on a réalisé l'extraction des polysaccharides sulfatés des quatre espèces d'algues (*Tribonema*, *Périphyton*, *Spiruline R2* et *Spirogyra sp*) séchées et broyées 15g de *Tribonema*, *Périphyton* et *Spirogyra sp*, 8 g de *Spiruline R2*, l'extraction fait par le protocole de [68].



On a utilisé des solvants sélectifs à agitation mécanique constante. La température a été contrôlée à l'aide d'un bain-marie. Tout d'abord, l'éthanol à 85% (v / v) à 23 °C (2 x12 h) et on a utilisé 70 °C (2 x 5 h) pour extraire les pigments et les protéines. Le solvant a été séparé des algues résiduelles par filtration. Algues résiduelles ont été traités avec  $\text{CaCl}_2$  à 2% (poids / volume) à 70 °C (3 x 3 h) dans l'ordre précipiter les alginates et extraire le laminaran et le fucoïdane du mélange (fraction A), puis centrifugé. Le fucoïdane (fraction B) a été extrait du résidu algues avec  $\text{HCl}$  0,01 M,  $\text{PH}=2$ , à 70 °C (3x 3h) et puis centrifugé. L'alginate (fraction C) était extrait avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  3% (p /v) à 70 °C (3 x 3 h) puis, centrifugé. Enfin on a conservé tous les extraits dans le réfrigérateur à 4°C (**Figure III. 8**).



**Figure III. 8 :** Les extraits éthanoliques et fractions (A, B, C).

On a fait les analyses physico-chimiques de la fraction (A, B, C) et l'extrait éthanolique (voir l'annexe 5).

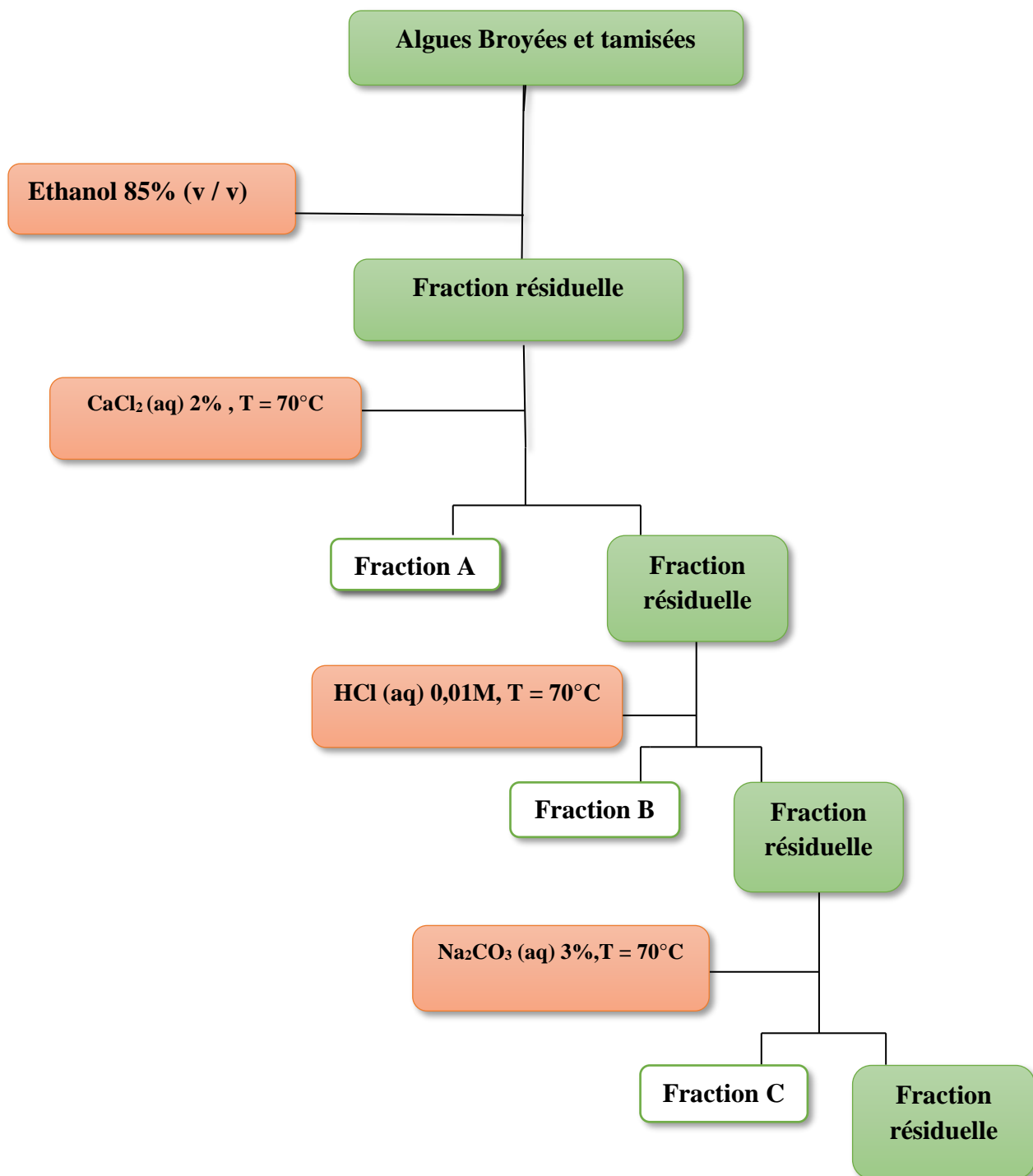


Figure III. 9 : Extraction des polysaccharides.

### III. 7. Activités biologiques :

Dans notre étude, nous nous sommes focalisés qu'à trois activités biologiques : les activités antibactériennes, anticoagulante et antioxydantes.

#### III. 7. 1. Activité antibactérienne

Au cours de nos investigations, cette activité a été réalisée aux Laboratoire d'analyses médicales Dr.Cherbi Ouargla.

L'activité antimicrobienne d'huiles d'algues des (*Tribonema*, *Spiruline R1*, *Périphyton*, *Spiruline R2*, *Spirogyra sp*) a été évaluée sur quatre souches bactériennes pathogènes, responsables de certaines maladies infectieuses. Ces souches sont : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus*.

##### III. 7. 1. 1. Tests d'activités antimicrobiennes

Les tests d'activités antimicrobiennes sont réalisés par la technique par contact direct (méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé) [70].

Cette méthode des disques est une méthode de diffusion des produits à tester à partir d'un disque de papier filtre qui permet de mesurer qualitativement la sensibilité des souches aux effets antimicrobiens. La méthode des disques est choisie dans cette étude pour sa fiabilité et sa simplicité. Cette méthode nous fournit des résultats préliminaires sur la sensibilité des souches et les activités antibactériennes du produit, grâce aux diamètres des zones d'inhibition apparaissant autour des disques mesurés en millimètres [71].

##### III. 7. 1. 2. Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne

Tout d'abord on a désinfecté la paillasse à l'eau de javel diluée et nous avons utilisé un bec bunsen pour réaliser une zone stérile, Couler la gélose Mueller–Hinton dans les boîtes de pétri dans la zone stérile limitée aux 15 cm autour du bec (20 à 25 mL par boîte soit une hauteur de 3 à 4 mm) (*Figure III. 10*). Laisser refroidir couvercle entre-ouvert pour éliminer la vapeur d'eau. Une fois solidifiées, les boîtes de gélose peuvent être stockées quelques jours au réfrigérateur (couvercle vers le bas).

On ensemence 200 µL d'une suspension bactérienne en phase de croissance exponentielle sur la surface de la gélose. La suspension est étalée le plus homogènement possible à l'aide d'un étaloir stérilisé (*Figure III. 11*).

Les disques de papiers filtrent de 6 mm de diamètre, préalablement stérilisés puis imprégnés dans l'huile d'algue sont déposés à la surface de gélose ensemencée et incubés à 37°C pendant 24 heures (*Figure III. 12*).



*Figure III. 10: Coulage des boîtes pétri*



*Figure III. 11: Etape d'ensemencement*



*Figure III.12: Incubation à 37C° pendant 24h*

La mesure du diamètre des zones d'inhibitions est transcrite dans différents symboles à l'activité (*Tableau III. 3*) [72].

*Tableau III. 3 : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés [72].*

<i>Diamètres de la zone d'inhibition (mm)</i>	<i>Transcription</i>	<i>Sensibilité de germe</i>
<i>&lt;8</i>	<i>-</i>	<i>Résistant</i>
<i>9-14</i>	<i>+</i>	<i>Sensible</i>
<i>15-19</i>	<i>++</i>	<i>Très sensible</i>
<i>&gt;20</i>	<i>+++</i>	<i>Extrêmement sensible</i>

Pour chaque boîte la mesure de la zone d'inhibition indique la sensibilité de ces germes, nous avons deux actions proposées à se produire :

- Soit une action bactéricide où nous ne remarquons aucune croissance microbienne autour des disques.
- Soit une action bactériostatique, dont il y'a des zones d'inhibition autour des disques disposés sur la surface de milieu de culture.

### III. 7. 1. 3 Résultats et discussions

Les résultats du test de l'effet antibactérien des huiles d'algues : *Spiruline R1*, *Spiruline R2*, *Spirogyra sp*, *Tribonema* et *Périphyton* sont résumés dans **le tableau III.4**

Les résultats de cette activité antibactérienne ont montré que tous les huiles d'algues étudiées ont produit des zones d'inhibition intéressantes vis-à-vis de microorganisme *Staphylococcus aureus* (G<sup>+</sup>), avec diamètre d'inhibition de (16,1 15,1 14,2 14,1 12,3) mm. On note aussi que tous les huiles qui n'ont pas montré d'activité remarquable envers les bactéries à G<sup>-</sup> (*Escherichia coli* et *Salmonella*).

On note aussi que les huiles de *Spirogyra sp*, *Tribonema* et *Périphyton* sont actifs envers *Streptococcus* G<sup>+</sup>, avec diamètre d'inhibition de (14,1 13,1 12,2) mm, par contre *Spiruline R1* et *Spiruline R2* sont résistantes.

Selon [72] ont montré que les métabolites extracellulaires de la cyanobactérie *Arthrospira platensis* (spiruline) sont actifs contre les bactéries *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* à Gram positif et sont résistants contre les bactéries à Gram négatif *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Salmonella paratyphi*. Ce résultat s'accorde avec ceux nos obtenus avec l'extrait de même espèce étudiée.

L'étude de [73] sur une algue verte démontré que les bactéries à Gram positif donné une zone d'inhibition à une concentration de 300 mg / ml et 350 mg / ml aussi aucune zone d'inhibiteur n'a été enregistrée contre les bactéries à Gram négatif, ces résultats aussi s'accorde avec nos résultats. D'après [73] les différences dans les activités antimicrobiennes peuvent être dues aux différences dans les parois cellulaires des bactéries, la paroi cellulaire d'une bactérie à Gram positif ne comprend qu'une couche externe de peptidoglycane. Cette structure la rend plus perméable aux autres substances.

Tableau III. 4 : Activité antibactérienne des huiles d'algues étudiées.

Les espèces des algues		Zone d'inhibition (mm)					
		<i>Spiruline</i> R1	<i>Spiruline</i> R2	<i>Spirogyra</i> sp	<i>Tribonema</i>	<i>Périphyton</i>	
<b>Les souches bactériennes</b>	Gram négatif	<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-
		<i>Salmonella</i>	-	-	-	-	-
	Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	14,2	16,1	14,1	12,3	15,1
		<i>Streptococcus</i>	-	-	14,1	13,1	12,2

Diamètre des zones d'inhibition (en mm) incluant le disque 6 mm.

(-) Indique que le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 8 mm.

Les Photographies de cette resultats sont suivants :

➤ *Escherichia coli*

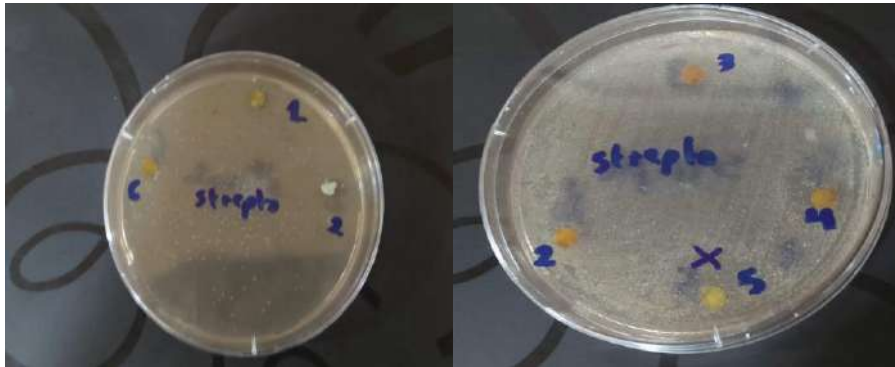


Figure III. 13: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre *Escherichia coli*.

➤ *Staphylococcus aureus*



Figure III. 14: Mise en évidence de l'effet antibactérien contre *Staphylococcus aureus*.

➤ *Streptococcus*

**Figure III. 15:** Mise en évidence de l'effet antibactérien contre *Streptococcus*.

➤ *Salmonella*

**Figure III. 16:** Mise en évidence de l'effet antibactérien contre *Salmonella*.

### III. 7. 2. Activité anticoagulante

Cette activité a été réalisée aux Laboratoire d'analyses médicales Dr.Cherbi Ouargla.

L'activité anticoagulante est faite par l'extrait des polysaccharides de quatre espèces d'algues (*Tribonema*, *Périphyton*, *Spirulina R2*, *Spirogyra sp*) et de leurs principaux constituants a été évaluée in vitro vis-à-vis les deux voies de la coagulation (la voie endogène et la voie exogène) sur un pool des plasmas humain normal et à l'aide de deux tests globaux ; le temps de céphaline-Kaolin (TCK) et le temps de Quick (TQ) ou le taux de prothrombine (TP).

#### III. 7. 2. 1. Préparation du plasma humain

Le sang est mis dans un tube en plastique sur une solution anticoagulante de citrate de sodium. Le sang est ensuite centrifugé pendant 10 minutes à 3000 rpm pour obtenir un plasma

pauvre en plaquettes. Le mélange de ces plasmas est conservé à basse température ( $-10\text{C}^{\circ}$ ) jusqu'à son utilisation.



*Figure III. 17: Plasma.*

### III. 7. 2. 2. Temps de Cephaline kaolin (TCK)

- **Principe**

L'évaluation de l'activité anticoagulante vis-à-vis de la voie endogène de la coagulation a été réalisée en utilisant le test du temps de céphaline-kaolin (TCK), un test qui mesure le temps nécessaire pour générer la fibrine à partir de l'initiation de la voie intrinsèque et permet d'explorer l'activité des facteurs plasmatiques de la voie endogène de la coagulation Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation à  $37\text{C}^{\circ}$  d'un plasma. Le TCK est exprimé en secondes, il est interprété par rapport à un temps de plasma témoin normal. Sa valeur normale ne doit pas dépasser plus de 6 à 8 secondes celle du témoin [76].

- **Mode opératoire**

Tout d'abord on a préparé le mélange de  $90\mu\text{L}$  d'échantillon de plasma humain normal avec  $10\mu\text{L}$  des différentes fractions d'algues, puis nous prenons  $20\mu\text{L}$  de ce mélange et ajouté  $20\mu\text{L}$  du réactif cephaline kaolin dans la chambre incubation pour incubés à  $37\text{C}^{\circ}$  pendant 3 mn, après incubation mettre le dans la chambre de lecture après on ajoute  $20\mu\text{L}$  de calcium chloride à  $0,25\text{mol/l}$  et le temps de formation du caillot est enregistré grâce à un Coagulomètre Genrui CA52.



### III. 7. 2. 3. Taux de prothrombine (TP)

- **Principe**

Le TP est un test global d'exploration de la coagulation sanguine, Ce test consiste à mesurer le temps de coagulation, à 37°C, d'un plasma pauvre en plaquettes, anticoagulé par recueil sur citrate de sodium. Le TP s'exprime en secondes et en pourcentage. Il est interprété par rapport à un temps de plasma témoin normal. La normalité du TQ varie entre 10 et 14 secondes [76].

- **Mode opératoire**

Tout d'abord on a préparé le mélange de 90µL d'échantillon de plasma humain normal avec 10µL des différentes fractions d'algues, puis nous prenons 25µL de ce mélange et mettre dans la chambre incubation pendant 2 mn, après incubation mettre le dans la chambre de lecture après on ajoute 50µL d'un réactif de TP pré-incuber à 37°C pendant 10mn et le temps de coagulation est enregistré grâce à un Coagulomètre Genrui CA52.



*Figure III. 18: Coagulomètre Genrui CA52.*



Figure III. 19: Test TP et TCK.

### III. 7. 2. 4 Résultats et discussions

Les résultats de l'activité anticoagulante obtenu comme suit :

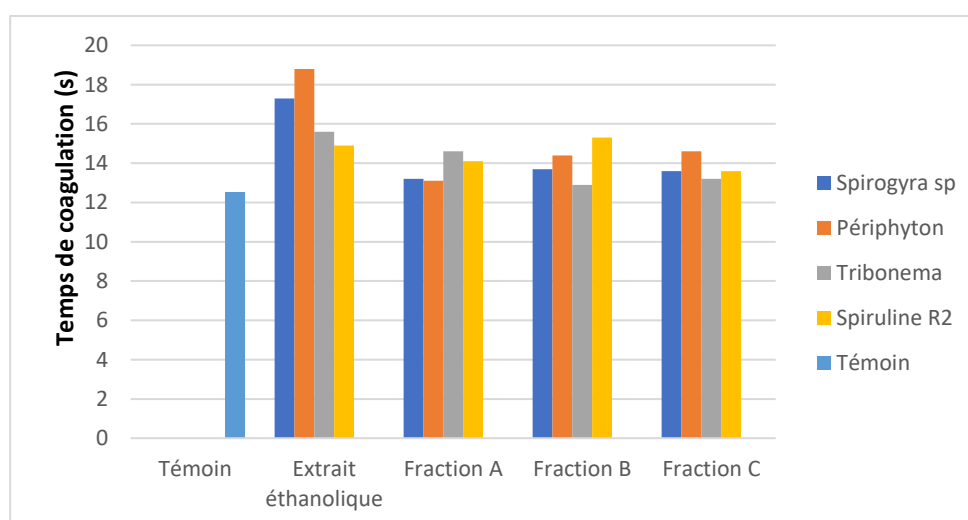


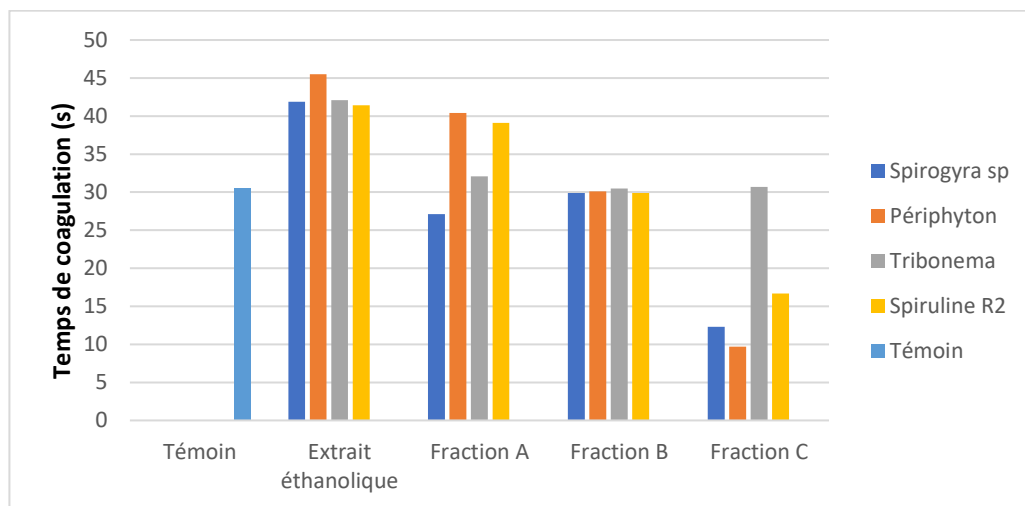
Figure III. 20: Taux de prothrombine des extraits éthanologiques et les fraction (A, B, C).

La Figure III. 20 représenté Les résultats de test de coagulation TP des extraits éthanologiques et les fractions (A, B, C) des quatre espèces d'algues étudiées.

L'effet anticoagulant des différentes algues vertes et cyanobactéries étudiées remarqué dans les extraits éthanologiques. L'allongement le plus élevé du temps de coagulation pour le test TP est obtenu par *Périphyton* avec 18,8s, suivi par *Spirogyra sp* (17,3s), *Tribonema* (15,6s) et *Spiruline R2* (14,9s). Tous ces résultats supérieurs au l'intervalle normal du test de TP (10-14s) et par rapport au témoin (12,5s). Un effet anticoagulant a été observée du l'extrait éthanologique de l'algue verte *Ulva fasciata* et l'algue brune *Dilophus fasciola* après 10 et 20 minutes [75].

Les résultats obtenus avec les fractions (A, B et C) des quatre espèces d'algues étudiées ont présenté des augmentations par rapport le témoin mais reste toujours dans l'intervalle normal.

Nous pouvons déduire que l'extrait éthanolique présenté un effet sur la voie extrinsèque de la coagulation, et les fractions (A, B et C) ont donc une faible action sur la voie extrinsèque dans le cas des espèces d'algues étudiées.



**Figure III. 21:** Temps de céphaline kaolin des extraits éthanoliques et les fractions (A, B, C).

La **Figure III. 21** représenté Les résultats de test de coagulation TCK des extraits éthanoliques et les fractions (A, B, C) des quatre espèces d'algues étudiées.

Le résultat du test de coagulation TCK de l'extrait éthanolique de *Périphyton* a eu un effet anticoagulant remarquable en inhibant la voie intrinsèque, ce résultat dépasse le témoin de 15s, le TCK normal ne dépasse pas 6-8s le temps du témoin. Aussi un effet anticoagulant est similaire en valeur a été obtenu respectivement par *Spirogyra sp*, *Tribonema* et *Spiruline R2*, dépasse le témoin de 11,6s.

Le résultat du test de coagulation TCK de la fraction (A) de périphyton est le plus élevé (40,4 secondes), suivi par *Spiruline R2* (39,9s), donc on peut dire que les composés de ces deux espèces dans la fraction (A) ont donné un effet anticoagulant inhibant la voie intrinsèque, par contre *Tribonema* aucune influence remarquable sur le test TCK dans cette fraction. *Spirogyra sp* a été obtenue une diminution du temps de coagulation 27,1s, c'est l'effet pro-coagulant. Le temps de coagulation n'a pas pu être déterminé. [76] ont étudié l'effet anticoagulant des extraits de l'algue brune *Dictyopteris polypodioides* l'extrait Contenant les laminaranes et fucoidanes ont donné un prolongement du TCK jusqu'à 40,5s à une concentration de 0,05µg/ml, ces résultats sont

en accord avec ceux obtenu par nos fractions A de *Périphyton*. Ces mêmes auteurs ont considéré que la fraction fucoïdanes/ laminaranes pouvait constituer un traitement alternatif à l'héparine.

Les résultats du test de coagulation TCK de la fraction (B) des quatre espèces d'algues étudiée démontrés qu'aucune inhibition remarquable dans la voie intrinsèque.

La fraction (C) des trois espèces *Spiruline R2*, *Spirogyra sp* et *Périphyton* a révélé un effet pro-coagulant, une diminution du temps de coagulation de ces espèces respectivement de 16,7, 12,3s et 9,7. Pour *Tribonema* le temps de coagulation resté la même avec le témoin n'ont eu aucune influence sur le test TCK.

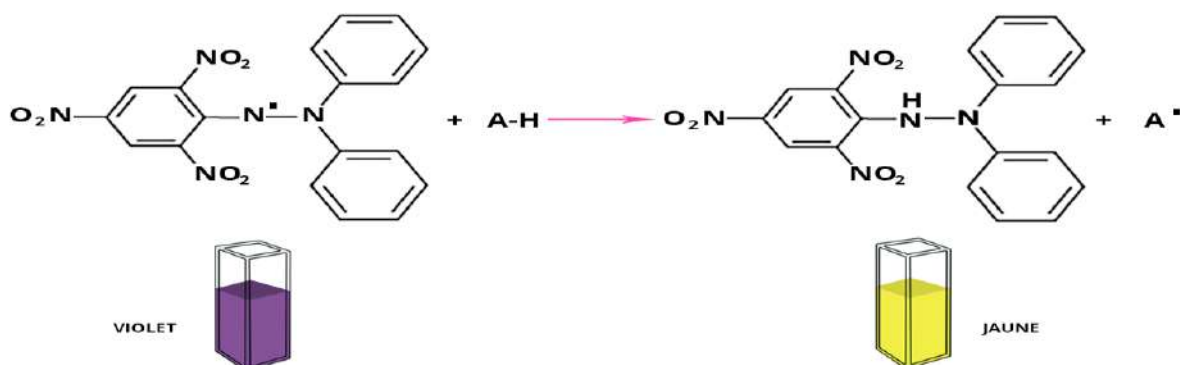
Ces différences entre les résultats peuvent être expliquées par la variabilité entre les variétés examinées et la variabilité entre l'extrait et les fraction (A, B et C).

### III. 7. 3 Activité antioxydante

L'activité antioxydante est faite sur trois espèces d'algues (*Tribonema*, *Spiruline R1*, *Spiruline R2*) et réalisée au laboratoire du Génie de l'eau et de l'environnement en Milieu Saharien de l'université Kassdi Merbah Ouargla, Pour évaluer l'activité antioxydante des huiles d'algues nous avons utilisé la méthode du DPPH.

#### III. 7. 3. 1 Méthode de piégeage de radical libre DPPH

C'est une méthode qui utilise le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH.) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test, le DPPH de couleur violette caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorbance spectral maximal à 517 nm. En présence d'antioxydants, l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet foncé (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H) (*Figure III. 17*). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires [77].



*Figure III. 22: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH [78].*

### III. 7. 3. 2 Mode opératoire

1 ml d'éthanol avec un volume de différentes concentrations de chaque extrait d'huile puis on ajoute 1 ml de la solution de DPPH, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 100ml d'éthanol 96% avec 4 mg de la poudre et agité la solution pendant 2h dans l'agitateur magnétique. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante de laboratoire, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre le blanc.

**Expression des résultats :** Le calcul des pourcentages d'inhibition se fait par la formule suivante :  $I \% = ((Ac - At) / Ac) \times 100$

Ac : absorbance du contrôle

At : absorbance de l'extrait



*Figure III. 23: La préparation et les résultats de l'activité antioxydante.*

## III. 7. 3. 3 Résultats et discussions

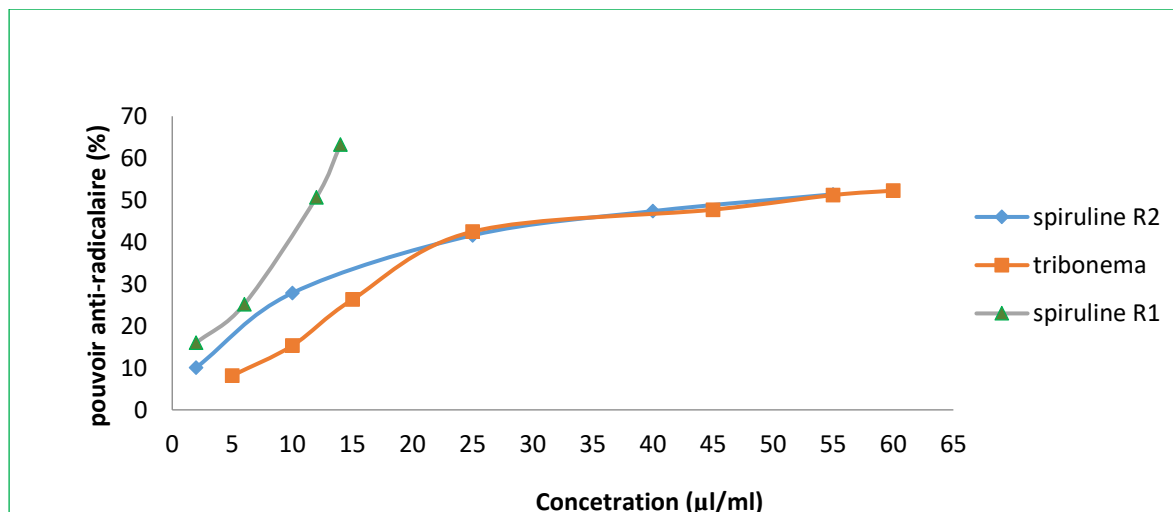


Figure III. 24: Activité anti-radicalaire des huiles d'algues de Spiruline R2, Tribonema, Spiruline R1.

Le graphique a représenté la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des huiles d'algues permet de déterminer l'IC<sub>50</sub> correspondant à 50 % d'inhibition. Cette valeur est comparée entre les types d'algues.

Les résultats de graphique semblent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des huiles.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont indiquées dans le tableau 3 pour nos huiles, Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  SD (n = 3).

Tableau III. 5 : Concentration inhibitrice à 50% des huiles d'algues.

Types d'algues	<i>Spiruline R1</i>	<i>Tribonema</i>	<i>Spiruline R2</i>
IC <sub>50</sub> (µl/ml)	10.98 $\pm$ 0,10	48.01 $\pm$ 0,19	49.10 $\pm$ 0,29

D'après les résultats de (tableau III. 5), on remarque que la concentration de *Spiruline R1* est inférieure par rapport aux autres types dont IC<sub>50</sub> égale à 10.98  $\pm$  0,10 µl/ml, suivi par l'huile de *Tribonema* avec une valeur de 48.01  $\pm$  0,19 µl/ml et finalement *Spiruline R2* qui semble être la moins performante avec un IC<sub>50</sub> de 49.10  $\pm$  0,29 µl/ml. Donc l'activité anti-radicalaire se classe dans l'ordre décroissant suivant : *Spiruline R1* > *Tribonema* > *Spiruline R1*.

Nos résultats indiquent que l'huile de *Spiruline* R1 a montré la plus forte activité anti radicalaire contre le radical DPPH, suivi respectivement par celles de deux espèces de *Tribonema* et *Spiruline* R2. L'espèce de *Spiruline* R1 présente aussi l'activité réductrice la plus importante.

### III. 8. Conclusion :

A partir de ce chapitre ont conclu que :

- ✓ L'espèce *Spiruline* des deux régions R1 et R2 possède de teneur importante en lipide.
- ✓ L'étude de l'activité anticoagulante in vitro a montré que les extraits éthanoliques de *Spirogyra sp*, *Périphyton*, *Tribonema* et *Spiruline* R2 ont une grande action sur la voie extrinsèque (TP) et la voie intrinsèque (TCK) de la coagulation.
- ✓ Concernant l'activité antibactérienne on a trouvé que les algues *Spirogyra sp*, *Périphyton* et *Tribonema* active contre les bactéries à gram positif et les deux spiruline active contre *Staphylococcus aureus*.
- ✓ Pour l'activité anticoagulante on a trouvé que les composés de *Spiruline* R2 et périphyton dans la fraction (A) donner un effet anticoagulant inhibant la voie intrinsèque.
- ✓ Pour l'activité antioxydante on a remarqué que l'IC<sub>50</sub> de *Spiruline* R2 est inférieur que les autres espèces.

---

## ***Conclusion générale***

---



## Conclusion générale

Ce travail avait pour objectif, la valorisation de quelques espèces algues du l'Algérie : potentialité pharmacologique. Nous avons présenté deux axes principaux ;

Le premier axe, est consacré à réaliser les analyses suivantes :

- L'extraction des huiles des *Spirogyra sp*, *Tribonema*, *Spiruline R1*, *Spiruline R2* et Périphyton.
- L'extraction des polysaccharides des *Spirogyra sp*, *Tribonema*, *Spiruline R2* et Périphyton, et l'analyse physico-chimiques de ces extraits.
- L'analyse physico-chimiques des eaux des espèces d'algues étudiées.
- Dans le deuxième axe :
- L'étude du pouvoir antibactérien *in vitro* sur des souches pathogènes : il s'agit de *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus* par la méthode de diffusion de disque sur milieu de Mueller-Hinton gélosé.
- L'étude du pouvoir anticoagulant *in vitro* des extraits polysaccharides (extraits éthanolique, fractions A, fractions B et fractions C) par les tests TP et TCK.
- L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*).

L'analyse des résultats obtenus montre que l'espèce *Spiruline* des deux régions R1 et R2 possède de teneur importante en lipide qui varient de 17 à 30 %.

L'étude de l'activité antibactérienne montré que les espèces *Spirogyra sp*, Périphyton et *Tribonema* actives contre les souches à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Streptococcus*). L'espèce *Spiruline* active seulement contre *Staphylococcus aureus*.

L'étude de l'activité anticoagulante *in vitro* montré que les extraits éthanoliques de *Spirogyra sp*, Périphyton, *Tribonema* et *Spiruline R2* ont une grande action sur la voie extrinsèque et la voie intrinsèque de la coagulation. Les fractions A, B et C de ces espèces ont une faible action sur la voie extrinsèque de la coagulation. Le résultat du test de coagulation TCK de la fraction (A) de Périphyton est le plus élevé (40,4 secondes), suivi par *Spiruline R2* (39,9s), donc on peut dire que les composés de ces deux espèces dans la fraction (A) donner un effet anticoagulant inhibant la voie intrinsèque.

L'étude de l'activité antiradicalaire des trois espèces *Spiruline R1*, *Tribonema* et *Spiruline R2* donnent IC<sub>50</sub>, respectivement, de 10.98±0,10 µl/ /ml, 48.01±0,19 µl/ml et 49.10±0,29 µl/ml.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de ce travail, nous ont permis de découvrir de nouvelles voies de valorisation de la biomasse algale de l'Algérie, donnant de nouveaux produits et matériaux dans des domaines d'application variés. Enfin, Au terme de ce travail, il convient de souligner l'importance des thèmes abordés sur la valorisation d'une ressource naturelle, en l'occurrence les algues d'eau douce.

---

# *Références*

---

---

**Références**

- [1] Richard J. Radmer, Algal diversity and commercial algal products, (1996), 263-270.
- [2] John W. Blunt, \*a Brent R. Copp, b Robert A. Keyzers, c Murray H. G. Munroa and Michele R. Prinsep, Marine natural products, (2012), 29, 144–222.
- [3] Marijana Kosanić,<sup>a,\*</sup> Branislav Ranković,<sup>a</sup> and Tatjana Stanojković<sup>b</sup>, Biological activities of two macroalgae from adriatic coast of mantenegro, (2015), 22(4): 390–397.
- [4] Adebitech, Romainville, Algues, filières du futur : Livre Turquoise., (2010), PP : II-6
- [5] Tebbal, A., “ Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza) ”, Mémoire de magister, Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et de l’aménagement du littoral, (2011).
- [6] Yassir. Bengueddour, Safâa El Hani<sup>1</sup>, Hamid. El Ibaoui, Rachida. El Ayadi, Najiba. Brhadda, Etude de l’activité anti oxydante de *Gelidium Sesquipedale* par chromatographie liquide haute performance, n° 10, (2014), 29-33.
- [7] K.H.M. Cardozo, T. Guaratini, M.P. Barros, V.R. Falcão, A.P. Tonon, N.P. Lopes, S. Campos, M.A. Torres, A.O. Souza, P. Colepicolo, E. Pinto, “Metabolites from algae with economical impact” Comparative Biochemistry and Physiology Part, (2007),60-78.
- [8] E. Tarlan, F.B. Dilek, U.Yetis ‘’ Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater’’, (2002), 1-5.
- [9] Shanmugam M, Mody KH, Ramavat BK. Sai Krishna Murthy, Siddhamta AK, Screening of codiaceae algae (chlorophita) of the indian coast for blood anticoagulant activity, Indian journal of marine sciences, (2002), PP:33-38.
- [10] Yasantha Athukorala a, Ki-Wan Lee a, Se-Kwon Kim b, You-Jin Jeon a, Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea, Bioresource Technology 98, (2007), 1711–1716.
- [11] Tarik Ainane, Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*, thèse de Doctorat, Université Hassan II Casablanca, Maroc, (2011), PP : 06-09.
- [12] Diadié Diouf, Production d'aliments enrichis en acides gras polyinsaturés à partir de microalgues pour les besoins aquacoles, Université du Québec, Rimouski, (2009), PP:03.
- [13] Mme Hela Ben Amor Ben Ayed, " Etude et optimisation de la bioaccumulation de magnésium dans les microalgues « *Chlorella vulgaris* »", Thèse de Doctorat, Université de Paris-Saclay et l'université de Sfax, (2015), PP : 06.
- [15] Amel Zehlila, "Caractérisation structurale et fonctionnelle des métabolites de l’algue verte *Ulva Rigida* au moyen d’une approche protéomique", Thèse de Doctorat, Université Tunis El Manar, (2017), PP : 06.

- [16] Memory Tekere, Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes, Université Virtuelle Africaine, (2006), PP : 28.
- [17] Sylvaine Rodriguez, Jean-Paul Vergon et all, Guide pratique de détermination des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes, (2014), PP : 11.
- [18] Sandrine Garon-Lardiere, " Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales)", Thèse de Doctorat, Université De Bretagne Occidentale, (2004), PP : 04-06.
- [20] Mme BOUCHOUKH Imane, Cours de Botanique 2<sup>ème</sup> année LMD, Université Constantine-1, (2016/2017), PP : 5-28-42-49-50.
- [21] Mr. ALEM Mohammed, " Les compléments alimentaires à base d'algues ", Thèse de Doctorat, Université Mohammed V-Rabat, (2015), PP : 06-19.
- [22] Hortense FALLER, " Les applications et la toxicité des algues marines ", Thèse de Doctorat, Université de Limoges, (2011), PP :12.
- [23] François Doré-Deschênes, " Utilisation des microalgues comme source d'énergie durable", Thèse de Doctorat, Université de Sherbrooke, (2009), PP : 28.
- [24] Hind Zitouni, " Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires ", Thèse de Doctorat, Université des Frères Mentouri Constantine, (2015), PP : 9-10-13-18.
- [25] Guillaume Pierre, " Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliqués dans leur adhésion ", Thèse de Doctorat, Université de La Rochelle, France, (2010), PP : 40.
- [26] A.Chouikhi, Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites : Revue, USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities — Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems "CIPCA4" TAGHIT (Bechar) – Algeria, (2013), PP: 03-07
- [27] Amandine Ollier, " Utilisation des algues dans les compléments alimentaires : usages et justifications scientifiques ", Thèse de Doctorat, Université de Grenoble Alpes, (2017), PP : 34.
- [29] N. ElMtili, F.Z. Fakihi Kachkach et M. El Harchi, " Les algues marines : nouvelle potentialité économique pour le Maroc. Quelle stratégie biotechnologique ? ", Cahiers UAE, 8-9, (2013), : 1-7.
- [30] Simon Pillard, " Mise au point sur les algues vertes : risques environnementaux et valorisations ", Thèse de Doctorat, Université de Picardie Jules Verne, (2016), PP : 55-70.
- [31] Jean-Yves Berthona, Rachida Nachat-Kappesa, Mathieu Beya, Jean-Paul Cadoreta, Isabelle Renimela and Edith Filaireb,c,d, Marine algae as attractive source to skin care, (2017), 51, NO. 6, 555–567.

- [32] Kim S-K, Ravichandran YD, Khan SB, Kim YT, Prospective of the cosmeceuticals derived from marine organisms. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2008;13(5):511-23.
- [33] LABIOD Ryma, "Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide", Thèse de Doctorat, Université Annaba, (2016), PP :26.
- [34] Blanc,V.,Mese, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, B., Navarro, F., Corte's, P.,Llagostera, M. ESBL – and plasmidic class C b-lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Veterinary Microbiology*, 118, (2006), PP :299-304.
- [35] Scheen,AJ, Le médicament du mois insuline glargine. *Revue médicale de liege*, 59(2), (2004), 110-114.
- [36] Guingard J. *Biochimie végétale*, Ed. Lavoisier, Paris, (1996), PP: 175-192.
- [37] Farid Y., Chennaoui M., Assobhei O., Etahiri S., Screening des algues marines d'oualidia à la recherche d'activites antimicrobienne et anti-inflammatoire, 6 (2). (2012), PP : 192-209.
- [39] Chang Y., Yang C., Sun R., Cheng Y., Kao W. and Yang P, Rapid single cell detection of *Staphylococcus aureus* by aptamer-conjugated gold nanoparticles. *Scientific reports*, (2013), 1038-1863.
- [41] Tomas Fiedler, Thomas Koller, and Bernd Kernd Kreikemeyer\*, *Streptococcus pyogenes* biofilms, (2015), 3389-1511.
- [42] Pr. A. Bouvet, *Cours de Bactériologie, Générale streptocoques-entérocoques Université Paris VI*, (2003), PP :10.
- [44]A. Andino and I. Hanning\*, *Salmonella enterica*: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars,(2015), 1155-5201.79.
- [46] Mohammed Alquwaizani, Leo Buckley, Christopher Adams, John Fanikos. *Anticoagulants: A review of the pharmacologie, Dosing, and complications*, (2013), PP:83.
- [47] Plaziat-Decoucel A, " Les anticoagulants ", Thèse de doctorat, Université Henry Poincare – Nancy 1, Faculte de pharmacie, (2009), PP : 123.
- [48] De Catarina R. Husted S. Walentin L. Andreotti F. Arnesen H. Bachman F. Baigent C. Hubert K. Jespersen J. Kristensen SD. Goy HL. Morais J. Rasmussen LH. Siegbahn A. Verheugt FWA. Weitz JI. General Mechanism of coagulation and targets of anticoagulant. *Thromb Haemos*, (2012), 569-579.
- [49] Muhammed I. Salman M,Kamal S. Rahman S.Aazzaiq R. Akash SH.Algae based biological active compounds. *Algae based polymers, Blends, and composites*, (2017), PP:155.
- [50] Shanmugam M. Mody KH. Ramavat BK. Sai Krishna Murthy. Siddhamta AK. Screening of codiaceae algae (chlorophita) of the indian coast for blood anticoagulant activity. *Indian journal of marine sciences*, (2001). PP:33-38.

- [51] Asgarpanah J. and Kazemivash N, Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Coriandrum sativum* L, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, (2012), 6(31): 2340-2345.
- [52] Lamina S., Ezema C. I., Theresa A. I. and Anthonia E. U, Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, (2013), (2) : 83-91.
- [53] Oucif Hanane, " valorisation des algues de la côté ouest Algérienne : petentiel antioxydant et hormonale ", Thèse de Doctorat, Université Oran, (2018), PP :29.
- [54] Williams DG, *The chemistry of essential oils*. Micelle Press. England, (1993).
- [55] Golfa khrabadi F., Yousefbeyk F., Mirnezami T., Laghaei P., Hajimahmoodi M and Khanavi M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activity of *Teucrium hyrcanicum*. *Pharmacognosy research*, (2015), 14155 – 6451.
- [56] H. Talbi<sup>1</sup>, A. Boumaza<sup>2</sup>, K. El-mostafa<sup>3</sup>, J. Talbi<sup>4</sup>, A. Hilali<sup>5</sup>, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L, 6 (4), (2015), 1111-1117.
- [57] BLAIS, S., Guide d'identification des fleurs d'eau de cyanobactéries. Comment les distinguer des végétaux observés dans nos lacs et nos rivières, 3ème édition, direction du suivi de l'état de l'environnement, ministère du développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 978-2-550-52408-3, (2008), PP : 54.
- [58] Laplace-Treyture C, Peltre M.C, Lambert E, Rodriguez S, Vergon J. P, Chanuvin C, Guide pratique de détermination des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes, (2014), PP : 204.
- [59] *Petko Ivanov Penchev*, "Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions", Thèse de Doctorat, Université Toulouse, (2010), PP :129.
- [61] Souad ZIGHMI, "Production de biodiesel et optimisation des paramètres des procédés de culture des microorganismes ", Thèse de Doctorat, Université Kasdi-Merbah OUARGLA, (2017), PP :49.
- [64] Shihong Liu, Husam A. Abu Hajar, Guy Riefler, Ben J. Stuart, Lipid Extraction from *Spirulina* sp. and *Schizochytrium* sp. Using Supercritical CO<sub>2</sub> with Methano, (2018), 2720763.
- [65] Farkha K. Trifa Fattah A. Othman Attar T. Omer, Oil and fatty acid composition of *spirogyra* and *chara* species from beasthan swr spring water in sulaimani-kurdistan region of iraq, (2013), 9(1): 159 – 162.
- [66] Reena Singh<sup>1</sup>, Ashutosh Kumar<sup>1</sup>, Yogesh Chandra Sharma<sup>1</sup>, Evaluation of Various Lipid Extraction Techniques for Microalgae and Their Effect on Biochemical Components, (2019), 12649 – 0060 :1-4.

- [67] Rodriguez JAG. Venderlei JAG. Bessa EF. Araujo Magalhaes F. Monteiro de paula RC. Vilma L. Borros benevides N, Anticoagulant activity of sulfated polysaccharide isolated from the grand seaweeds, *Braz Arch. Biol Technology*, (2011), PP : 691.
- [68] Se-Kwon k. Vinay N. Li X. Anticancer compounds from marine macroalgae and their application as medicinal food. *Advances in food and nutrition*, (2011), PP :213-224.
- [69] L.-E. Rioux a, S.L. Turgeon a, M. Beaulieu b,1. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carbohydrate polymers*, (2007), PP: 530-537.
- [70] Tag J.R., Given A.R. Assay System for Bacteriocins, *Applied Microbiology*, (1971), PP: 943.
- [71] GOUDJIL Mohamed Bilal, "Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques", Thèse de Doctorat, Université Kasdi-Merbah Ouargla, (2016), PP :43-44.
- [72] L.Trabelsi<sup>1</sup>, H. Ben Ouada<sup>1</sup>, H. Bassa, Activités biologiques des métabolites excrétés par la cyanobactérie filamenteuse *Arthrospira platensis*, (2010), 8(5) : 282-289.
- [73] Wan Razarinah WAR\*, Rizlan Ross, E.E\*, Nor Farinna Abdul Rahim, Batrisyia Syazana Faridon and Khairul Adzfa Radzun, Antimicrobial activity of marine green algae extract against microbial pathogens, (2018), 2, 42 – 46.
- [74] Hilal HAFIAN, Orientation diagnostique devant les anomalies du temps de saignement, du temps de céphaline activé, du temps de Quick et de l'international normalized ratio, N° 3, (2003), PP :187.
- [75] Eman A. Ibrahim<sup>1</sup>, Hanan F. Aly<sup>2</sup> And Farouk K. EL-baz<sup>\*1</sup>, Anticoagulant and anti-inflammatory potentials of some egyptian marine algae, (2016), 89 – 94.
- [76] Nadine Karaki<sup>1</sup>, Carine Sebaaly<sup>1</sup>, Nathalie Chahine<sup>2</sup>, Tarek Faour<sup>3</sup>, Alexandre Zinchenko<sup>4</sup>, Samar Rachid<sup>1</sup> and Hussein Kanaan<sup>1\*</sup>, The antioxidant and anticoagulant activities of polysaccharides isolated from the brown algae *Dictyopteris polypodioides* growing on the Lebanese coast, (2013), 2231-3354.



**Site web :**

- [14] [http://www.journaldelenvironnement.net/mediatheque/9/9/3/000022399\\_5.jpg](http://www.journaldelenvironnement.net/mediatheque/9/9/3/000022399_5.jpg) Consulter le : 25 / 02 / 2019
- [19] [https://www.encyclopedie-environnement.org/app/uploads/2017/05/biodiversite-cotes-rocheuses\\_focus.jpg](https://www.encyclopedie-environnement.org/app/uploads/2017/05/biodiversite-cotes-rocheuses_focus.jpg) Consulter le : 25 / 02 / 2019
- [28] [https://nutriphys.com/wp-content/uploads/2018/07/Algues-B12\\_v2.jpg](https://nutriphys.com/wp-content/uploads/2018/07/Algues-B12_v2.jpg) Consulter le : 31 / 03 / 2019
- [38] [https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/web/113652\\_web.jpg](https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/web/113652_web.jpg) Consulter le : 29/05/2019.
- [40] <http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/gram%20positive%20bacteria%20microscopy/staphylococcus.jpg> Consulter le : 28/05/2019
- [43] <https://ecofrenhealth.files.wordpress.com/2011/11/32401.jpg> Consulter le : 28/05/2019
- [45] [https://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer\\_assets/site\\_images/article\\_thumbnails/slideshows/salmonella\\_generic\\_slideshow/650x350\\_salmonella\\_generic.jpg](https://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer_assets/site_images/article_thumbnails/slideshows/salmonella_generic_slideshow/650x350_salmonella_generic.jpg) Consulter le : 28/05/2019.
- [46] <http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/gram%20positive%20bacteria%20microscopy/staphylococcus.jpg> Consulter le : 28/05/2019
- [49] <https://ecofrenhealth.files.wordpress.com/2011/11/32401.jpg> Consulter le : 28/05/2019
- [51] [https://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer\\_assets/site\\_images/article\\_thumbnails/slideshows/salmonella\\_generic\\_slideshow/650x350\\_salmonella\\_generic.jpg](https://img.webmd.com/dtmcms/live/webmd/consumer_assets/site_images/article_thumbnails/slideshows/salmonella_generic_slideshow/650x350_salmonella_generic.jpg) Consulter le : 28/05/2019
- [60] [https://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop412A/20110016\\_01\\_the\\_theory\\_and\\_practise\\_of\\_pharmaceutical\\_technology/images/image265.jpg](https://www.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop412A/20110016_01_the_theory_and_practise_of_pharmaceutical_technology/images/image265.jpg) Consulter le : 31/05/2019
- [62] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hexane> Consulter le : 31/05/2019.
- [63] [https://tse3.mm.bing.net/th?id=OIP.zF\\_jaBXb7Bw7VqMCJbYGjgHaDh&pid=Api&P=0&w=345&h=165](https://tse3.mm.bing.net/th?id=OIP.zF_jaBXb7Bw7VqMCJbYGjgHaDh&pid=Api&P=0&w=345&h=165) Consulter le : 31/05/2019.
- [77] [http://chimactiv.agroparistech.fr/resources/images/fiches/aliments/antioxy\\_dant-dpph/antyoxydant-image-6.png](http://chimactiv.agroparistech.fr/resources/images/fiches/aliments/antioxy_dant-dpph/antyoxydant-image-6.png) Consulter le : 02/06/2019

---

# *Annexes*

---

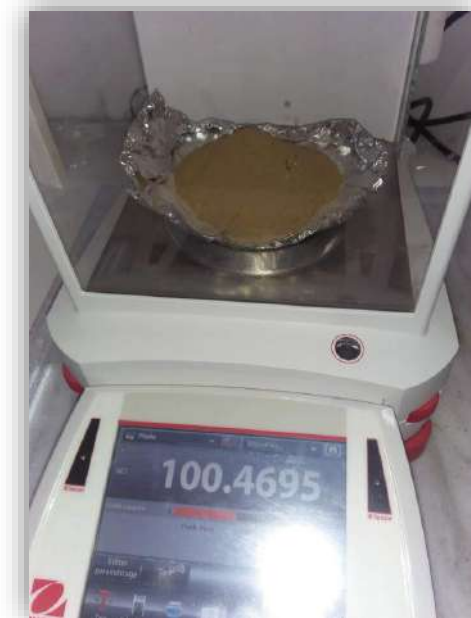
Annexes

**Annexe 1:** L'appareille utilisée pour l'identification des algues.



**Microscope**

**Annexe 2:** Les appareils et les produits utilisés pour l'extraction des lipides.







**Balance**



Montage d'extraction par soxhlet

## n-hexane

Les propriétés chimiques	Les propriétés physiques	Fiche de sécurité
Formule brute $C_6H_{14}$	Température d'ébullition 68.7°C	
Masse molaire 86.17 g/mol	Température de fusion -95.3 °C	
Moment dipolaire 0.09D <sup>2</sup>	Point d'éclair- 22°C	
Diamètre moléculaire 0.587nm <sup>2</sup>	Masse volumique 0.66	

**Annexe 3 : Activité antibactérienne.**



**Les appareils pour stérilisation**



**Les souches**

**Coulage des Boites pétris**



**Gélose nutritif et Muller Hinton**



**les disques**

**Annexe 4:** Les appareils et les produits utilisés pour l'extraction des polysaccharides.



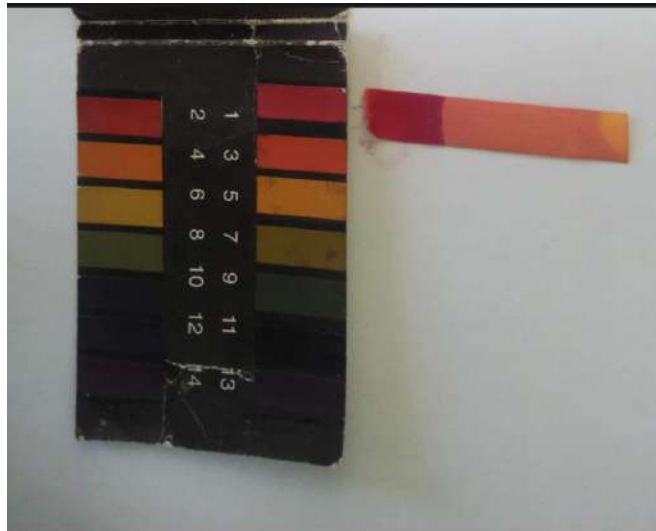
**Densimètre**



**Multi paramètre**



**Bain-marie**






Papier PH

## Éthanol

Les propriétés chimiques	Les propriétés physiques	Fiche de sécurité
<b>Formule brute</b> $C_2H_6O$	Température d'ébullition $79^{\circ}C$	
<b>Masse molaire</b> $46.06$ g/mol	Température de fusion $-114^{\circ}C$	
<b>Moment dipolaire</b> $1.66D^2$	Point d'éclair $13^{\circ}C$	
<b>Diamètre moléculaire</b> $0.469nm^3$	Masse volumique $0.789$	

**Acide chlorhydrique**

<b>Les propriétés chimiques</b>	<b>Les propriétés physiques</b>	<b>Fiche de sécurité</b>
<b>Formule brute HCl</b>	Température d'ébullition -85°C	
<b>Masse molaire 36.46 g/mol</b>	Température de fusion -114 °C	
<b>Moment dipolaire 1.1086 D<sup>2</sup></b>	Point critique 51.35°C	
<b>pKa -4</b>	Masse volumique 1.00045 g/l	



**Annexe 5:** Les analyses physico-chimiques des fractions (A, B, C) et les extraits

éthanoliques

*Spirogyra sp*

Les paramètres	Fraction A	Fraction B	Fraction C	Extrait éthanolique
<b>PH</b>	5.40	7.07	7.44	4.07
<b>ORP (mvorp)</b>	-18.3	-17.1	36.6	157.9
<b>DO% Saturation</b>	1.1	00	1.7	3.2
<b>DO concentration (Ppm.do)</b>	0.09	00	0.14	0.25
<b>Conductivité</b>	1896	1744	994	143
<b>Conductivité Absolue</b>	1.886	1.751	1.008	0.144
<b>Résistivité</b>	0.0005	0.0006	0.0010	0.007
<b>TDS (ppm.tds)</b>	951	870	496	71
<b>Salinité</b>	0.97	0.87	0.49	0.07
<b>T(C°)</b>	24.60	25.36	25.80	25.63
<b>ATM pression (psi)</b>	14.542	14.540	14.547	14.542
<b>Mv (OH<sup>-</sup>) PH</b>	96.6	-1.7	-24.7	174.4
<b>La densité</b>	0.705	0.999	0.996	0.998
<b>Rendement %</b>	24.73	20.20	20.19	42.73

*Périphyton*

Les paramètres	Fraction A	Fraction B	Fraction C	Extrait éthanologique
PH	6.45	7.35	7.35	5
ORP (Mv orp)	24.8	97	51	212.8
DO% Saturation	00	00	0.1	00
DO concentration (Ppm.do)	00	00	0.01	00
Conductivité	1703	820	289	236
Conductivité Absolue	1.558	0.756	0.296	0.242
Résistivité	0.0006	0.0012	0.0035	0.0042
TDS (ppm.tds)	850	410	145	118
Salinité	0.86	0.40	0.14	0.11
T(C°)	20.63	20.96	26.22	26.21
ATM pression (psi)	14.537	14.541	14.541	14.538
Mv (OH <sup>-</sup> ) PH	32.9	-17.2	-22.2	120
La densité	0.025	0.418	0.0238	0.840
Rendement%	15.54	17.25	15.78	43.75

*Spiruline R2*

Les paramètres	Fraction A	Fraction B	Fraction C	Extrait éthanologique
PH	6.26	7.31	7.28	4.04
ORP Mv orp	-233.4	262.9	-118.7	294.9
DO% Saturation	00	00	00	00
DO concentration Ppm.do	00	00	00	00
Conductivité	5262	2100	477	00
Conductivité Absolue	5.161	2.104	0.483	00
Résistivité	0.0002	0.0005	0.0021	00
TDS ppm.tds	2591	1061	238	00
Salinité	2.76	1.08	0.23	00
T (C°)	23.99	24.62	25.54	26.70
ATM pression (psi)	14.544	14.547	14.546	14.541
Mv (OH <sup>-</sup> ) PH	45.3	-16.3	14.5	180.3
La densité	1.001	0.999	0.281	0.876
Rendement %	13.01	16.84	8.80	82.34

*Tribonema*

Les paramètres	Fraction A	Fraction B	Fraction C	Extrait éthanolique
<b>PH</b>	5.34	7.44	7.19	3.44
<b>ORP mv.orp</b>	4.3	28.5	-97.2	351.9
<b>DO% Saturation</b>	0.8	1.1	00	1.4
<b>DO concentration Ppm.do</b>	0.07	0.09	00	0.12
<b>Conductivité</b>	573	1603	294	113
<b>Conductivité Absolue</b>	0.569	1.558	0.300	0.115
<b>Résistivité</b>	0.0017	0.0006	0.0034	0.0088
<b>TDS ppm.tds</b>	287	815	147	58
<b>Salinité</b>	0.28	0.83	0.14	0.05
<b>T(C°)</b>	24.70	25.65	26.06	25.66
<b>ATM pression (psi)</b>	14.538	14.533	14.538	14.541
<b>Mv (OH<sup>-</sup>) PH</b>	99.2	-22.5	-10	211.5
<b>La densité</b>	0.997	0.997	0.996	0.837
<b>Rendement %</b>	6.69	19.29	16.77	40.53

**Annexe 6: Activité anticoagulante.****Brief Operation Guide for CA52 Coagulation Analyzer****1 Start up the instrument**

Turn on the power switch to do system self-test, the test channels are heated by the thermostat, the "TEMP" indicator will be on after about 10 minutes, then the instrument is ready for the normal measurement.

**2 Examples of basic operating procedures**

Select "1-Measure" to enter into the measurement interface, select sample test or QC test. (Below is the example of sample test in channel 1)

**2.1 PT test****2.2 Patient ID**

Set the test item and sample No. (ID).

**2.3 Input No.**

Press "1", the cursor appears on the screen, input number "0001" to be the 1st sample, then press "ENTER", press "MENU" to return to the main menu.

Press "2", the cursor appears on the screen, press "↑" or "↓" to select the test item, then press "ENTER", press "MENU" to return to the main menu.

Press "6" to set patient ID in channel 2.

**2.4 Preheat PT reagent**

Put an appropriate amount of PT reagent according to the assay into the reagent incubation position to incubate it to 37°C.

**2.5 Preheat plasma**

Add 20µL plasma into an empty cuvette in the test channel or incubation position, incubate it for 2 minutes (add sample to the bottom of the cuvette, should not have bubbles).

**2.6 Aspirate reagent**

Put the incubated cuvette to the test channel, use the pipette to aspirate 40µL PT reagent.

**2.7 Test**

Press "OPTIC 1", the screen displays "Add reagent to CH 1", add the PT reagent (the pipette should be pressed down thoroughly and then loosened), quickly close the shielding cover, the instrument starts the test and time automatically, then it will show and print the result.

**2.8 Test multiple samples**

Test PT of multiple samples by repeating steps 2.5, 2.6 and 2.7. The patient No. will add 1 automatically after testing one PT. (Press "MENU" to return to the main menu).

**2.9 APTT test**

Press "2" in the sample test interface, the cursor appears on the screen, press "↑" or "↓" to select APTT.

Add 20µL plasma in the cuvette, then add 20µL APTT reagent, incubate for 3 minutes.

Aspirate 20µL of the incubated CaCl<sub>2</sub> by pipette, press "OPTIC 1", add CaCl<sub>2</sub> when

the screen displays "Add reagent to CH 1", quickly close the shielding cover, the instrument starts the test and time automatically, then it will show and print the result.

#### 2.10 TT test

Press "2" in the sample test interface, the cursor appears on the screen, press "↑" or "↓" to select TT.

Add 30 $\mu$ L plasma in the cuvette and incubate it for 2 minutes.

Aspirate 30 $\mu$ L of the incubated TT reagent by pipette, press "OPTIC 1", add the reagent when the screen displays "Add reagent to CH 1", quickly close the shielding cover, the instrument starts the test and time automatically, then it will show and print the result.

#### 2.11 FIB test

Press "2" in the sample test interface, the cursor appears on the screen, press "↑" or "↓" to select FIB-C.

Add 40 $\mu$ L diluted plasma in the cuvette and incubate it for 2 minutes.

Aspirate 20 $\mu$ L of the incubated FIB reagent by pipette, press "OPTIC 1", add the reagent when the screen displays "Add reagent to CH 1", quickly close the shielding cover, the instrument starts the test and time automatically, then it will show and print the result.

### 3 Print results

Press "2" in the main menu to enter into submenu.

Input the sample No and press "ENTER", all results of this ID displays on the screen, press "←" or "→" to select the specific result and press "1" to print this result.

Commonly-used test samples for blood coagulation assays and the reagent consumption

No.	Test item	Sample ( $\mu$ L)	Preheating time (min)	Reagent 1 ( $\mu$ L)	Preheating time (min)	Reagent 2 ( $\mu$ L)
1	PT	20/25	2	40/50		
2	APTT	20	0	20	3	20 (CaCl <sub>2</sub> )
3	TT	30	2	30		
4	FIB	40	3	20		

Note:

Select the reagents from different company, operator should set Set parameters in the "EditTest" interface when using reagents from different companies, please check the details according to the user manual.

Possible reasons of the abnormal test result: anticoagulant invalid (preparation time is too long, concentration is in correct, improper anticoagulant), blood collection time is too long, bubbles after adding reagent, reagent invalid, improper connection of the ground cable, etc.

If the test result is too high or too low, the possible reason is that the temperature is not set correctly, except other factors. Press "Maintain" to enter into the submenu, then press "Temp ADJ", press "↓" or "↑" to adjust the temperature.

### 4 Maintenance and service

During testing, if there is no test in other test channel, put an empty cuvette in it to protect the optic system.



Centrifugeuse



L'extrait éthanolique et les fractions (A, B, C) et le plasma humain



Les deux réactifs taux de prothrombine et céphaline-kaolin.

### *Préparation des réactifs*

**Réactif TP :** Prendre un flacon de TP et ajouter 4ml du tampon de reconstitution prêt à l'emploi et bien mélangé.

**Réactif TCK :** Prendre un flacon TCK et ajouter 3ml d'eau distillée stérile et bien mélanger.

### **Annexe 7 :** Activité antioxydante.



**Spectrophotomètre UV**



**Solution DPPH**

**Annexe 7:** Les analyses physico-chimiques de milieu de culture des algues.

	<i>Tribonema</i>	<i>SpirulineR1</i>	<i>Périphyton</i>	<i>Spirogyra</i> <i>sp</i>	<i>Spiruline</i> <i>R2</i>
<b>PH</b>	7.37	8.18	7.73	7.22	7.46
<b>ORP mv.orp</b>	281.5	234.3	272.2	269.9	276.7
<b>DO% Saturation</b>	49.5	9.3	50.5	26.0	52.8
<b>DO concentration Ppm.do</b>	4.79	0.86	4.85	2.34	05.11
<b>Conductivité</b>	4413	10.55	4299	23.99	3060
<b>Conductivité Absolue</b>	3.653	9.016	3.555	19.78	2.535
<b>Résistivité</b>	0.0002	0.0001	0.0002	0	0.0003
<b>TDS ppm.tds</b>	2208	5282	2150	12.01	1530
<b>Salinité</b>	2.37	6.01	2.30	14.64	1.61
<b>T(C°)</b>	15.92	17.29	15.89	15.75	15.96
<b>ATM pression (psi)</b>	14.612	14.637	14.619	14.607	14.614
<b>Mv (OH<sup>-</sup>)PH</b>	-19.3	-64.3	-39.9	-11	-46
<b>Sea water</b>	0.8	3.3	0.7	10.2	0.2