

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Kasdi Merbah –Ouargla- Faculté des Sciences de la Nature
Et de la Vie



Département des Sciences Biologiques

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Présentée par : Beddiaf Fatima

**Extraction des polysaccharides de *Chlorella vulgaris* isolée
du sahara algérien et évaluation de leur activité
antihyperglycémiant**

Soutenu publiquement

Le : 27/06/2021

Devant le jury

Président	OULD EL HADJ Mohamed Didi	Pr.	Univ. Ouargla
Promoteur	BOUAL Zakaria	Pr.	Univ. Ouargla
Examinatrice	BENAOUN Fatima	MCA	Univ. Ouargla
Co-promotrice	GUEHAZ Karima	Assistante	Univ. Ouargla

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciement

Tous d'abord nous tenons à remercier le bon **Dieu** tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

J'exprime ma profonde gratitude et respectueuse reconnaissance à ma encadrant **M. BOUAL Zakaria** professeure au Département des Sciences biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah - Ouargla, pour son encadrement, conseils et sacrifices afin de donner le meilleur et pour son suivi durant la période de préparation de mon mémoire d'afin d'étude. Je voudrai remercier aussi **Mme GUEHAZ Karima** assistante à la Faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université KASDI MERBAH Ouargla pour d'avoir codirigé ce travail, ses conseils et ses orientations.

Nos remerciements vont aux membres du jury

Monsieur OULD EL HADJ Mohamed Didi Professeur au Département des Sciences biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Nous présentons nos remerciements les plus sincères à **Mme BENAOUN Fatima**, Maître de conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions les membres du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique-Ouargla" **CRAPC**" et du Laboratoire d'Analyse Médicale "**IBN ROCHD**" Ghardaïa, de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire et permis de réaliser les travaux pratiques, Je remercie en particulier **Mme Ghania Bouziane** et **Seddiki Malika** pour leur aide, leur encouragements et leur précieux conseils.

J'adresse mes sincère remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées je suis là, vraiment un grand remerciement pour leurs qualité d'enseignement qui j'ai été dispensé.



Dédicace

A mes chers parents, que Dieu les protège

Pour leur amour, leur soutien et leur sacrifice pour moi et pour tout...

Je remercie Dieu de les avoir dans ma vie.

J'espère qu'ils seront toujours fiers de leur fille

A toute ma grande famille. ...

A mes sœurs, mes frères, leurs maris et leurs enfants

Pour leurs encouragements et pour leur soutien moral et physique.

A tous mes amis proches

A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin

Pendant ma période d'études.

BEDDIAF Fatima



Résumé

Extraction des polysaccharides de *Chlorella vulgaris* isolée du sahara algérien et évaluation de leur activité antihyperglycémiant

Le but de ce travail est d'étudier les exopolysaccharides extraits de *Chlorella vulgaris* isolée du Sahara Algérien et d'évaluer de leur activité antihyperglycémiant. Nous avons cultivé un échantillon de cette souche dans le milieu BBM, les exopolysaccharides sont isolés après précipitation à l'éthanol froid. Le rendement massique du polysaccharide extrait est estimé à 35,08 %. L'étude de la composition montre 54,26±0,51% d'oses totaux, parmi eux 15,59 ± 0,08% sont des oses neutres 38,61± 0,34% d'oses acides. Ces résultats montrent que ces polysaccharides ont des propriétés biologiques importantes. Pour l'évaluation de l'activité antihyperglycémiant de l'extrait polysaccharidique, l'inhibition de l' α -D-glucosidase, *in vitro* a été entretenue. Nous avons constaté qu'il a une inhibition relative de l'enzyme avec une capacité maximale de 41,88± 1,07 % à une concentration de 100 mg/L.

Mots clés : *Chlorella vulgaris*, Microalgues, Exopolysaccharides, Activité, Antihyperglycémiant.

Abstract

Extraction of polysaccharides from *Chlorella vulgaris* isolated from the Algerian Sahara and evaluation of their antihyperglycemic activity.

The aim of this work is to study the exopolysaccharides extracted from *Chlorella vulgaris* isolated from the Algerian Sahara and to evaluate their antihyperglycemic activity. We cultured a sample of this strain in BBM medium; the exopolysaccharides are isolated after precipitation with cold ethanol. The mass yield of the extracted polysaccharide is estimated at 35.08%. The study of the composition shows 54, 26 \pm 0.51% of total monosaccharides, among them 15,59 \pm 0.08% are neutral monosaccharides and 38,61 \pm 0.34% of uronic acid. These results show that these polysaccharides have important biological properties. For the evaluation of the antihyperglycemic activity of the polysaccharide extract, the inhibition of α -D-glucosidase, *in vitro* was maintained. We found that it has relative inhibition of the enzyme with a maximum capacity of 41.88 \pm 1.07% at a concentration of 100 mg / L.

Keywords : *Chlorella vulgaris*, Microalgae, Exopolysaccharides, Activity, Antihyperglycemic.

الملخص

استخراج متعدد السكريات من *Chlorella vulgaris* المعزولة من الصحراء الجزائرية وتقييم نشاطها الخافض لنسبة السكر في الدم.

الهدف من هذا العمل هو دراسة السكريات الخارجية المتعددة المستخرجة من *Chlorella vulgaris* المعزولة من الصحراء الجزائرية وتقييم نشاطها المضاد لارتفاع نسبة السكر في الدم. قمنا بزراعة عينة من هذه السلالة في وسط BBM ، يتم عزل السكريات الخارجية بعد الترسيب باستخدام الإيثانول البارد. يقدر العائد الكتلي لعديد السكريات المستخرج بـ 35.08%. أظهرت دراسة التركيب أن 54,26 ± 0,51% من السكريات الكلية ، من بينها 15,59 ± 0,08% سكريات متعادلة و 0,34 ± 38,61% من السكريات الحمضية. تظهر هذه النتائج أن هذه السكريات لها خصائص بيولوجية مهمة. لتقييم النشاط المضاد لارتفاع السكر في الدم لمستخلص عديد السكريات ، تم الحفاظ على تثبيط α -D-glucosidase في المختبر. وجدنا أن له نشاط تثبيط نسبي لنشاط الإنزيم. تبلغ سعته القصوى 41,88 ± 1,07% بتركيز 100 ملجم / لتر.

الكلمات المفتاحية : *Chlorella vulgaris* ، طحالب دقيقة ، عديدات السكريات الخارجية ، نشاط , مضاد لارتفاع السكر.

Table des matières

Résumé 1

Liste des Abréviations 1

Liste des figures 1

Liste des tableaux 1

Introduction 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I :Microalgues

I.1.- Généralités 2

I.2.- Habitats des microalgues 2

I.3.-Structure cellulaire des microalgues 3

I.4.-Diversité des microalgues 5

I.4.1.-Classification morphologique 5

I.4.1.1.- Procaryotes 5

I.4.1.1.1.- Cyanophyceae (Cyanobactéries) 5

I.4.1.2.- Eucaryotes 6

I.4.1.2.1.- Diatomées (Bacillariophyceae) 6

I.4.1.2.2.- Chlorophyceae (algues vertes) 7

I.4.1.2.3.- Chrysophyceae (algues dorées) 7

I.4.1.2.4.- Rhodophyceae 7

I.4.1.2.5.- Euglénophyceae 7

I.4.2.- Caractéristiques morphologiques et physiologiques 8

I.5.- Mécanisme photosynthétique de microalgues 8

I.6.-Systèmes de culture des microalgues 10

I.6.1.- Culture en photoautotrophie 10

I.6.1.1.- Système de culture fermé	10
I.6.1.2.-Systèmes ouverts (Raceways)	12
I.6.2.-Culture en hétérotrophie	13
I.7.-Paramètres du développement des microalgues	14
I.7.1.- Lumière.....	15
I.7.2.-Température.....	15
I.7.3.-PH	15
I.7.4.- Turbulence	15
I.7.5.- Nutrition.....	16
I.8.- Application des microalgues	16
I.8.1.- Domaine alimentaire.....	17
I.8.2.-Domaine pharmaceutique	18
I.8.3.-Domaine cosmétique	18
I.8.4.-Domaine environnementale	19
I.8.5.-Domaine énergétique.....	20

Chapitre II : Polysaccharides des algues

II.1.-Définition des polysaccharides.....	21
II.2.- Composition et structure des polysaccharides	21
II.3.-Classification des polysaccharides	22
II.4.- Généralités sur les polysaccharides des algues	23
II.5.-Différents types des polysaccharides des microalgues	23
II.5.1.-Exo polysaccharides	24
II.5.1.1.- Carraghénane.....	24
II.5.1.2.- Agars	25
II.5.1.3.- Alginates.....	26
II.5.1.4.- Fucoïdanes.....	27

II.5.1.5.- Ulvan	27
II.5.2.- Polysaccharides de réserve (intracellulaires)	29
II.5.3.-Polysaccharides de structure (fibrillaire).....	30
II.6.- Activités biologiques et applications des polysaccharides.....	30
II.6.1. - Applications thérapeutiques	31
II.6.1.1.- Activité anti-tumorale	31
II.6.1.2.-Activités Anti-inflammatoires et immunomodulatrices	31
II.6.1.3.-Activité anti diabète	32
II.6.1.4.-Activité antioxydante et dépollution des radicaux libres	32
II.6.2.- Applications industrielles	32

Partie 2 : Etude expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.1.- Principe de l'étude	34
III.2.-Présentation de la souche	34
III.3.-Culture de la biomasse	34
III.4.- Développement de la biomasse microalgale.....	36
III.5.- Extraction des exopolysaccharides	36
III.6.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble	38
III.6.1.- Dosage des oses totaux	38
III.6.1.1.- Principe	38
III.6.1.2.-Matériel et réactifs	38
III.6.1.3.-Préparation de la solution mère de glucose.....	38
III.6.1.4.- Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique.....	38
III.6.1.5.- Préparation de la solution de phénol.....	38
III.6.1.6.- Préparation de la gamme d'étalonnage du glucose.....	39
III.6.1.7.- Mode opératoire	39

II.6.2.- Dosages des oses neutres.....	39
III.6.2.1.-Principe	39
III.6.2.2.-Matériel et réactifs	39
III.6.2.3.-Préparation de la solution du résorcinol.....	40
III.6.2.4.-Mode opératoire	40
III.6.3.-Dosage des acides uroniques	40
III.6.3.1.- Principe	40
III.6.3.2.-Matériels et réactifs.....	41
III.6.3.3.-Préparation de la solution de borax.....	41
III.6.3.4.-Préparation de La solution (m-HBP)	41
III.6.3.5.- Mode opératoire	41
III.7.-Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique.....	42
III.7.1.- Activité antihyperglycémiant	42
III.7.1.1.-Préparation des solutions et réactifs.....	42
III.7.1.2.-Préparation de la solution de l'acarbose	42
III.7.1.3.-Préparation des dilutions de l'acarbose.....	43
III.7.1.4.-Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100µl).....	43
III.7.1.5.-Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique.....	43
III.7.1.6.-Mode opératoire (BISHT et al., 2013; QIAN et al., 2015)	43

Chapitre IV: Résultats et discussions

IV.1.-Culture de la biomasse.....	46
IV.2.- Développement de la biomasse microalgale (axénique)	46
IV.4.- Extraction des exopolysaccharides	48
IV.4.- Etudes des polysaccharides microalgal	48
IV.4.1.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble	48
IV.4.1.1- Dosage des oses totaux	49

Table des matières

IV.4.1.2- Dosage des oses neutres.....	50
IV.4.1.1- Dosage des oses acides	50
IV.5.- Activité antihyperglycémiant.....	51
Conclusion et perspectives	53
Références bibliographiques	55
Annexes	69

Liste des Abréviations

ADP	Adenosine diphosphate
AND	Acide désoxyribonucléique
AGPI	Acides gras polyinsaturés
ARN	Acide ribonucléique
BBM	Bold's Basal
C°	Degré Celsius
Ca ²⁺	Ion calcium
COOH	Fonction Carboxylique
C=O	Fonction Cétone
CO ₂	Gaz carbonique
CHO	Fonction Aldéhyde
DO	Densité optique
DP	Degré de polymérisation
EPS	Exopolysaccharides
ECPS	Polysaccharides extracellulaires
Fe	Fer
JNK	Kinases c-Jun N-terminales
HSV	virus de l'herpès
GES	Gaz à effet de serre
Glc.A	Acide glucuronique
Glc	Glucose
m-HDP	méta-hydroxydiphenyl

Liste des figures

Figure 1 : Schéma de structures cellulaires de microalgues	4
Figure 2: Cyanobactéries dans les écosystèmes des eaux intérieures.	6
Figure 3: Diversité morphologique des microalgues.	8
Figure 4: Schéma d'un chloroplaste.....	9
Figure 5: Phases photochimique et chimique de la photosynthèse.	10
Figure 6 : photobioréacteurs tubulaires de l'université de Wageningen (Algae Parc).	11
Figure 7: photobioréacteurs plats	12
Figure 8: photobioréacteur cylindrique	12
Figure 9: Culture de Spiruline en raceway, Californie	13
Figure 10: Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues.	14
Figure 11: Forme nutritive des microalgues : La Spiruline (<i>Arthrospira Platensis</i>).	17
Figure 12 : Les algues vertes dans les cosmétiques.	19
Figure 13: Représentation schématique d'unités répétitives idéalisées de carraghénaène.	25
Figure 14 : Structure de l'agar (agarose + agaropectine).....	26
Figure 15: Structure des alginates.	26
Figure 16: Structures des principaux disaccharides répétitifs constituant l'ulvan.....	28
Figure 17: Structures de l'amylose et de l'amylopectine	29
Figure 18: Structure de la cellulose.....	30
Figure 19: La culture de la souche dans les erlenmeyers.....	35
Figure 20: Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des microalgues.....	37
Figure 21: Observation de la souche microalgale par microscopie optique à Gx10 (Fig. A) et Gx100 (Fig. B).	46
Figure 22: Courbe de développement de la biomasse.....	47
Figure 23: Courbe d'étalonnage des oses totaux.....	49
Figure 24: Courbe d'étalonnage des oses neutre.....	50
Figure 25: Courbe étalon des oses acides.	51

Figure 26: Pouvoir inhibiteur d'extrait polysaccharidique issu de *Chlorella vulgaris* et de l'acarbose sur l' α -D-glucosidase, *in vi tro*.....52

Liste des tableaux

Tableau 1.-Critères de classification des polysaccharides (LEURINZO, 2018).....	22
Tableau 2.-Classification de <i>Chlorella vulgaris</i>	34
Tableau 3.- Préparation des étalons de glucose.....	39
Tableau 4.- Préparation des étalons de glucose pour les oses neutre (RUIZ, 2005)	40
Tableau 5.- Gamme étalon d'acide glucuronique.	41
Tableau 6.- Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique.....	43
Tableau 7: Test de l'activité antidiabétique	44
Tableau 8.- Rendement des EPS extraite	48
Tableau9.- Teneurs en oses totaux, neutres et acides.....	48

Introduction



Introduction

Les microalgues sont des espèces unicellulaires photosynthétiques, trouvés généralement dans les eaux marines et douces avec une taille allant de quelques micromètres à quelques centaines de micromètres (VONSHAK, 1993 ; VENKATESAN *et al.*, 2015).

Les trois classes les plus importantes des microalgues en termes d'abondance sont les diatomées (*Bacillariophyceae*), les algues vertes (*Chlorophyceae*), et les algues dorées (*Chrysophyceae*). Les cyanobactéries ou algues bleu-vert (*Cyanophyceae*) sont également appelés microalgues, à savoir la spiruline (*Arthrospira platensis* et *Arthrospira maxima*) (VENKATESAN *et al.*, 2015).

La croissance des microalgues dépend de la lumière, de la température de l'eau, de la concentration en nutriments, de la salinité, du pH, vitamines et d'oligo-éléments (BRENNAN et OWENDE, 2010 ; MUTANDA *et al.*, 2011).

Les microalgues ont été identifiées comme un potentiel ressource pour un certain nombre de produits à valeur ajoutée (telle que : Oméga 3, antioxydant) ainsi que des matières premières pour les futurs carburants verts. Elles proviennent de la source de la chaîne alimentaire pour plus de 70% de la biomasse mondiale (WIESSNER *et al.*, 1995). Ce sont des organismes omniprésents, les producteurs primaires de la vie sur terre, avec un taux de croissance rapide et structure simple. Les microalgues en font des organismes intéressants pour les applications biotechnologiques. Ainsi, les composants cellulaires de microalgues comme les glucides et les protéines peuvent être utilisés à diverses fins à savoir plusieurs types de biocarburants renouvelables, de compléments alimentaires et d'agents pharmaceutiques (CHISTI, 2007 ; HARUN *et al.*, 2010 ; SINGH *et al.*, 2014).

La principale raison de l'intérêt précoce pour la biotechnologie des microalgues était due aux caractéristiques végétales de nombreuses microalgues, c'est-à-dire à leur capacité à utiliser le CO₂ comme seule source de carbone et la lumière du soleil comme seule source d'énergie (GILMOUR, 2019).

Les microalgues peuvent être considérées comme des usines cellulaires à cause de leurs nombreux métabolites à haute valeur comme les omégas 3, les pigments, des polysaccharides (LUCCHETTI, 2014 ; SPOLAORE *et al.*, 2006). De plus, elles peuvent excréter de grandes quantités de polysaccharides qui représentent une quantité considérable de carbone organique par

exemple les diatomées sont particulièrement bien connues pour excréter de grandes quantités de polysaccharides pendant toutes les phases de leur croissance (PASSOW, 2002).

Ces dernières années, les polysaccharides isolés des ressources naturelles, tels que les plantes, les animaux, les champignons, les algues ont attiré l'attention en raison de leur grande variété d'activités biologiques -les effets antitumoraux, immunomodulateurs, anti-oxydants anti-inflammatoires, anticoagulants, antimutagènes, anticancéreux, radioprotecteurs, antiulcéreux, antithrombotiques et antimicrobiennes-, ce qui en fait des produits bioactifs et des biomatériaux prometteurs avec une large gamme d'applications (CHO *et al.*, 2015 ; LI *et al.*, 2012 ; ; XIE *et al.*, 2010 ;KRAAN, 2012; MISURCOVA *et al.*, 2015; RAPOSO *et al.*, 2015).

Afin d'éviter les effets néfastes de l'utilisation d'additifs chimiques, les fabricants d'aliments se sont appuyés sur des sources naturelles, notamment marines. L'utilisation des algues comme alternative importante, riche en composés efficaces, pour son taux de croissance élevé et sa haute valeur économique et nutritionnelle (CHISTI, 2007 ; SPOLAORE *et al.*, 2006).

L'inflation du diabète inquiète les chercheurs. Selon l'organisation mondiale de la santé en 2011, le diabète est l'une des maladies les plus répandues dans le monde.L'utilisation d'inhibiteurs enzymatiques qui aident à réduire la glycémie, y compris l'acarbose et le meglitol, bloquent l'hyperglycémie postprandiale. Mais ces inhibiteurs ont des effets secondaires comme des douleurs abdominales, des troubles gastro-intestinaux, de la diarrhée (BISHT *et al.*, 2013).

Il était nécessaire de rechercher des alternatives, et ce qui a attiré l'intérêt des chercheurs est la teneur élevée en glucides des algues, et leur utilisation plus sûre, ainsi que leurs propriétés fonctionnelles et nutritionnelles, et avec la tendance mondiale vers l'utilisation de produits naturels dans le traitement de nombreuses maladies, le but de l'étude était donc d'étudier les polysaccharides extraits d'une souche d'algue trouvée dans le Sahara algérien , plus précisément dans la région de Ouargla, l'activité des polysaccharides extraits d'algues vertes contre l'hyperglycémie. Le travail décrit dans la présente étude comprend 03 parties organisées comme suit :

Une synthèse bibliographique qui va mettre en avant des généralités sur les microalgues et les polysaccharides, leur classification, leurs caractéristiques majeures et leurs applications dans les différentes filières. La deuxième partie concerne le matériel et les méthodes utilisés. La troisième partie porte sur les résultats obtenus, la discussion, et enfin une conclusion générale.

Partie 1

Synthèse bibliographique



Chapitre I :
Microalgues



I.1.- Généralités

Les microalgues sont des micro-organismes unicellulaires photosynthétiques (DELATTRE et *al.*, 2016). Elles sont en grande partie un groupe diversifié de microorganismes comprenant des eucaryotes photoautotrophes et cyanobactéries procaryote (parfois appelées algues bleues), ces microbes contribuent à la moitié de l'activité photosynthétique mondiale et se trouvent virtuellement dans les niches euphotiques (SINGH et SAXENA, 2015 ; SIALVE, 2013).

Les microalgues sont une source prometteuse pour plusieurs composés bioactifs comme les pigments, polysaccharides et vitamines (CARDOZO et *al.*, 2007 ; NORTON et *al.*, 1996). Elles ne contiennent pas de tiges ni de racines comme le font les plantes supérieures dites 'thallophytes'.

La taille des microalgues est très variable et leurs cellules mesurent de quelques microns à plusieurs centaines de microns, elles sont connues par leur croissance rapide et leur haute teneur en énergie.

La biomasse des microalgues contient principalement des protéines (30–50%), des glucides (20–40%) et des lipides (8–15%) (HU, 2004 ; SINGH et *al.*, 2011 ; WANG et *al.*, 2013; ZHU et *al.*, 2014).

I.2.- Habitats des microalgues

Les microalgues occupent la plupart des niches écologiques, si elles sont surtout présentes dans les environnements aquatiques, elles ont su également coloniser les sols et une vaste gamme de supports comme les rochers, les arbres ou encore les édifices architecturaux (SIALVE et STEYER., 2013) et elles sont disponibles en grande quantité dans de nombreuses régions pouvant pousser à la fois en eau douce et en eau salée (SAHOO et SECKBACH, 2015 ; BWAPWA et *al.*, 2018). Donc ces microorganismes ont la capacité de vivre dans une variété d'habitats avec des conditions difficiles s'elles peuvent pousser dans les glaces polaires aux zones désertiques, arides et semi arides et aux sources d'eau chaudes (GRIVALSKÝ et *al.*, 2019). Cette capacité est grâce à l'absence de structure complexe autre que la cellule et à un métabolisme orienté principalement vers la production d'énergie que les microalgues ont cette capacité à être notablement ubiquistes (SIALVE et STEYER, 2013).

I.3.-Structure cellulaire des microalgues

Similaire aux cellules végétales, ces microorganismes vitaux sont photoautotrophes et contiennent des chloroplastes, bien que les microalgues sont dépourvues de racines, de tiges ou de feuilles comme le font les plantes supérieures, elles présentent certaines caractéristiques similaires aux organites cellulaires (SIALVE et STEYER, 2013). Les cellules d'algues contiennent des organites (Fig.01) ;

-Le noyau d'une cellule microalgale est le centre de contrôle, qui contient l'acide désoxyribonucléique (ADN) ; le matériel génétique de la cellule.

-Pour la plupart des microalgues présentant une paroi, la composition sera sensiblement similaire aux structures pariétales des plantes supérieures offrant des structures polysaccharidiques et protéiques plus ou moins complexes (SIALVE et STEYER, 2013 ; SINGH et SAXENA, 2015). Il y a une exception pour les cyanobactéries, par exemple leur paroi est identique à celles des bactéries Gram-négative, à savoir un peptido-glycane (SIALVE et STEYER, 2013).

-Les microalgues contiennent également des corps lipidiques, qui sont une source immédiate d'énergie stockée et générée par la photosynthèse comme les plantes supérieures, ces composés ont également le rôle de production de nourriture pour la cellule microalgale.

-Le chloroplaste a un arrangement interne complexe avec une molécule de chlorophylle au cœur ; grâce à une série complexe de réactions biochimiques, la chlorophylle utilise le dioxyde de carbone de l'atmosphère et l'énergie lumineuse pour fabriquer le glucose (SINGH et SAXENA, 2015). Le réticulum endoplasmique (RE) de la cellule est une membrane interne complexe, leur fonction est la synthèse et le transport constants de protéines complexes et d'autres éléments constitutifs cellulaires importants contenant des lipides (CADORET et al., 2008 ; SINGH et SAXENA, 2015).

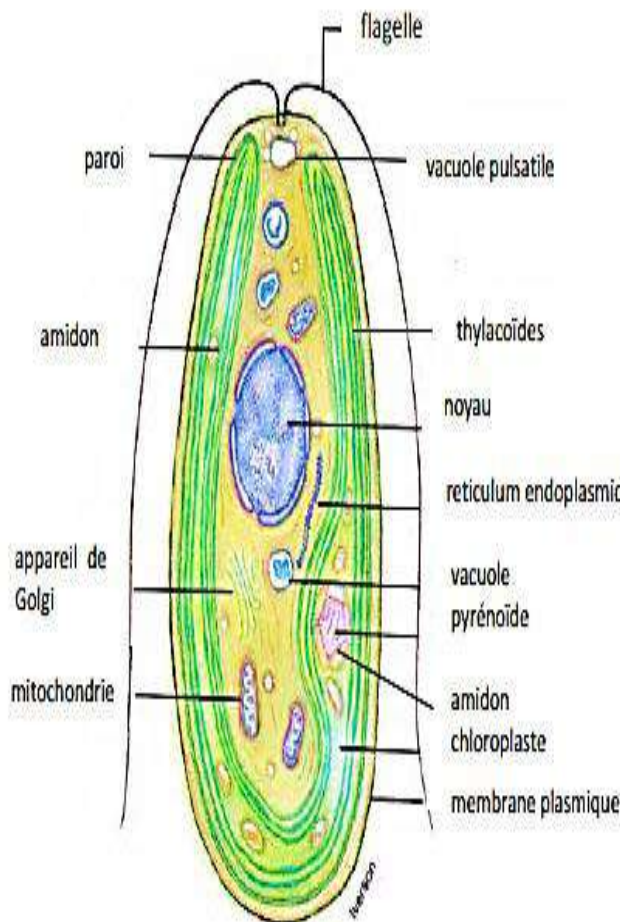
-L'appareil de Golgi est responsable de la production d'enzymes digestives et la protection de la cellule contre les substances nocives (en les isolants).

-Les mitochondries dans les cellules de microalgues brûlent des substances pour traiter la respiration, en utilisant de l'oxygène et en générant le composé adénosine triphosphate (ATP).

-Les algues n'ont pas de structures vasculaires, qui sont des tubes que l'on trouve dans les plantes pour transporter les nutriments. Contrairement aux structures reproductrices des plantes, la plupart des algues se reproduisent de manière asexuée ou par séparation cellulaire ; comme ils n'ont pas besoin de générer des structures de soutien et de reproduction élaborées, ils peuvent consacrer d'avantage de leur énergie au piégeage et à la conversion de l'énergie lumineuse et du CO₂ en biomasse (SINGH et SAXENA, 2015).

A : algue unicellulaire

cellule de 10 à 20 µm environ



B : cyanobactérie

cellule de 5µm environ

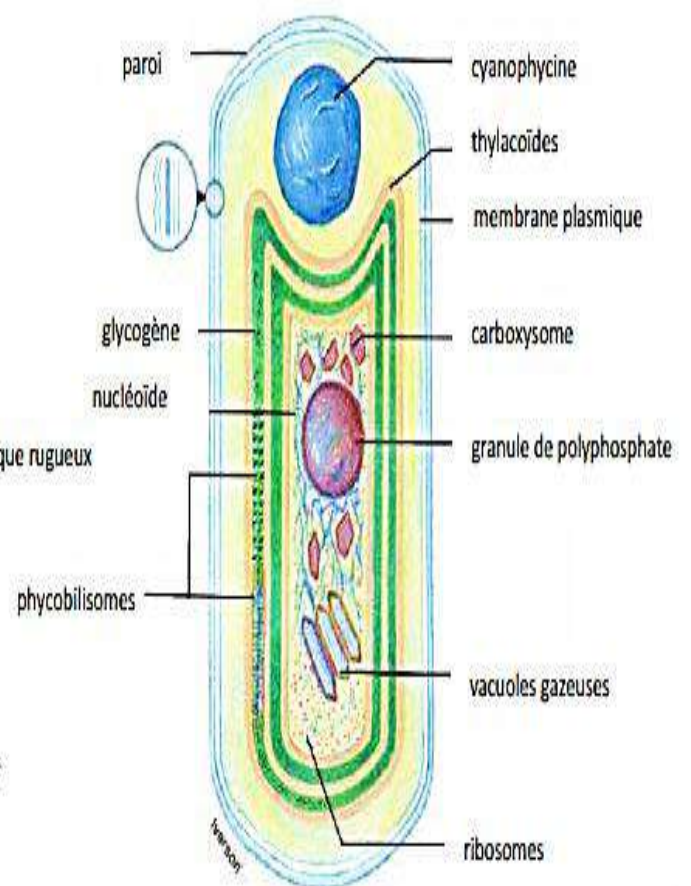


Figure 1 : Schéma de structures cellulaires de microalgues ([https://www.ac-strasbourg.fr/fileadmin/pedagogie/biotechnologies/Enseignement technologique/Ressources pedagogiques/Concours general STL/CGbiotech ecrit 2013 docts.pdf](https://www.ac-strasbourg.fr/fileadmin/pedagogie/biotechnologies/Enseignement_technologique/Ressources_pedagogiques/Concours_general_STL/CGbiotech_ecrit_2013_docts.pdf))

I.4.-Diversité des microalgues

La diversité des microalgues est vaste et représente une ressource intacte, la littérature scientifique indique l'existence de 200 000 à plusieurs millions d'espèces de microalgues par rapport à environ 250000 espèces de plantes supérieures (SINGH et SAXENA, 2015 ; NORTON et *al.*, 1996). Le classement en divisions est basé sur diverses propriétés telles que la pigmentation, la nature chimique des produits de stockage issus de la photosynthèse, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques (PERSON, 2010).

Les techniques de biologie moléculaire ont été utilisées pour déterminer les affiliations des différents groupes de microalgues et leurs relations avec d'autres groupes taxonomiques (PROUZET, 2015).

I.4.1.-Classification morphologique

On divise les microalgues en deux groupes selon la présence ou l'absence de la membrane nucléaire en procaryote et eucaryote (FILALI, 2012).

I.4.1.1.- Procaryotes

Les procaryotes sont des êtres unicellulaires, dépourvus de noyau et bordés d'une membrane.

I.4.1.1.1.- Cyanophyceae (Cyanobactéries)

Les cyanobactéries sont des procaryotes photosynthétiques qui captent la lumière du soleil pour produire de l'énergie en utilisant la chlorophylle 'a' et divers pigments accessoires (VINCENT, 2009), anciennement appelées algues bleues.

Elles présentent une grande diversité morphologique, certaines sont unicellulaires, sphériques ou en bâtonnets (SOANEN, 2017) et se trouvent dans différents environnements(Fig.02) (aquatique, terrestre ...).

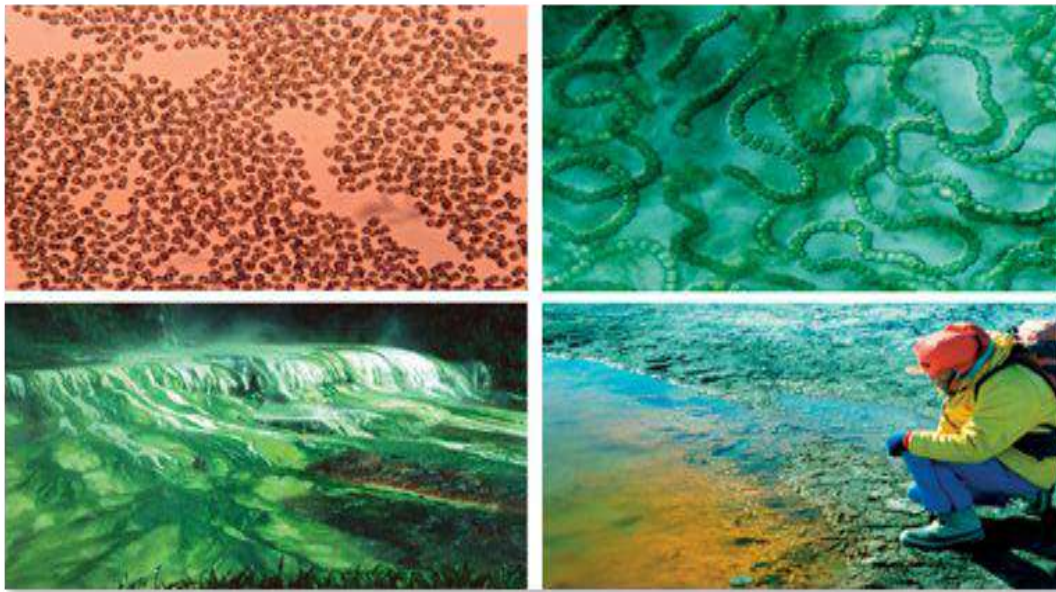


Figure 2: Cyanobactéries dans les écosystèmes des eaux intérieures (VINCENT, 2009).

Certaines cyanobactéries sont consommées par les humains depuis des siècles (cyanobactérie *Arthrospira platensis*, communément appelée "spiruline" qui sont utilisées dans la production de compléments nutritifs et colorants alimentaires) tandis que d'autres sont connues pour leur toxicité (FRIGAARD, 2018).

I.4.1.2.- Eucaryotes

Les cellules eucaryotes sont généralement de plus grande taille, avec un noyau bordé d'une membrane, le plus souvent, elles contiennent aussi des membranes internes qui cloisonnent la cellule en y délimitant des organites qui ont des fonctions biologiques spécialisées.

I.4.1.2.1.- Diatomées (Bacillariophyceae)

Les diatomées sont des eucaryotes unicellulaires avec des parois cellulaires de silice nanométriques et elles contribuent à environ 20% de la production primaire mondiale (GARACCI, 2018). Ce sont les microalgues les plus couramment rencontrées à l'état de traces. C'est le groupe le plus important d'eucaryotes photosynthétiques car ils sont les principaux fixateurs de CO₂ en milieu aquatique. Il existe 265 genres de diatomées et près de 10 000 espèces qui sont réparties à 50 % en eau douce et 50 % en eau de mer (LUCCHETTI, 2014).

I.4.1.2.2.- Chlorophyceae (algues vertes)

Les chlorophytes ou algues vertes constituent une division qui a l'ensemble d'attributs suivants : chloroplastes sans réticulum endoplasmique externe, thylakoïdes généralement en piles de deux à six, chlorophylle-a et -b comme pigments photosynthétiques, véritable amidon et parois ou écailles cellulosiques (SHEATH et WEHR, 2003).

Chlorella vulgaris, *Dunaliella salina* et *Haematococcus pluvialis* sont des espèces de Chlorophyceae et sont aujourd'hui utilisés dans des productions commerciales, tandis que *Parietochloris incisa* et *Botryococcus braunii* présentent un potentiel de production de lipides et d'hydrocarbures, respectivement (HEIMANN et HUERLIMANN, 2015).

I.4.1.2.3.- Chrysophyceae (algues dorées)

Les chrysophyceae, parfois appelées algues dorées, sont des composants communs du plancton dans les lacs oligotrophes. Ils ont deux flagelles, ils sont généralement associées à des plans d'eau stagnants qui ont des nutriments, une alcalinité et un pH légèrement acide à neutre (SHEATH et WEHR, 2003).

I.4.1.2.4.- Rhodophyceae

Ils comprennent près de 400 espèces présentant dans la majorité des cas un métabolisme photoautotrophe (FILALI, 2012), ils représentent une division caractérisée par des chloroplastes sans réticulum endoplasmique et thylakoïdes non empilés, pigments de phycobiliprotéine, amidon de Floride et absence de flagelles (SHEATH et WEHR, 2003). Ce sont des algues de pigmentation rouge qui sont capables de se développer dans les eaux saumâtres et salées.

I.4.1.2.5.- Euglénophyceae

Il existe plus de 800 espèces d'Euglenophyceae qui sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres et douces. Les principales réserves de ces algues sont constituées de paramylon, une substance glucidique, et d'huiles (CANTIN, 2010).

1.4.2.- Caractéristiques morphologiques et physiologiques

Les microalgues ont une taille de l'ordre du micromètre et se présentent sous des formes variables : souvent sphériques (*Porphyridium*), en forme de croissant (*Clostridium*), de spirale (*Arthrospira*), de gouttelette (*Chlamydomonas*) et même d'étoile (*Staurastrum*) (Fig. 03) (FILALI, 2012).

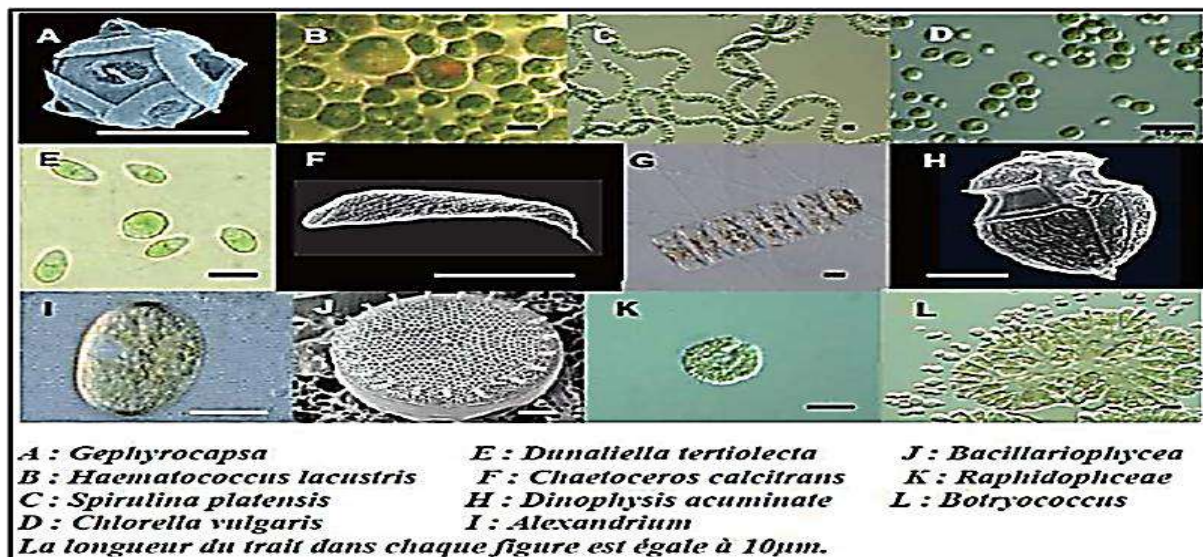


Figure 3: Diversité morphologique des microalgues (FILLALI, 2012).

Du point de vue structure cellulaire, la microalgue présente un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à son fonctionnement tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléoplastes et les mitochondries. Elle contient trois principaux types de pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines.

I.5.- Mécanisme photosynthétique de microalgues

Bien que la plupart des microalgues utilisent la photosynthèse pour leur nourriture, et comme les plantes certaines ont même des racines et des feuilles, elles ne sont pas considérées comme des plantes (CHAUDHARY *et al.*, 2014).

La photosynthèse des algues est principalement basée sur le cycle de Calvin dans lequel le ribulose-1,5-bisphosphate réagit avec le CO₂ pour synthétiser l'acide 3-phosphoglycérique (3-PGA), qui est consommé lors de la production de glucose et d'autres métabolites, les microalgues ont une meilleure efficacité de conversion des photons et peuvent produire et accumuler de grandes quantités de biomasse glucidique (SINGH et SAXENA,

2015). L'une des raisons pour lesquelles le groupe des microalgues est avancé comme contenant les organismes idéaux pour la production de biocarburants est due à la grande efficacité de réactions photosynthétiques par rapport aux plantes supérieures (GILMOUR, 2019). Les microalgues peuvent transformer environ 6% de l'énergie totale du rayonnement incident en biomasse fraîche (SINGH et SAXENA, 2015). La photosynthèse se déroule en deux étapes ; une étape photochimique et un non photochimique. Ce processus a lieu dans les chloroplastes qui sont des organites présents dans le cytoplasme des cellules eucaryotes photosynthétique (Fig. 04).

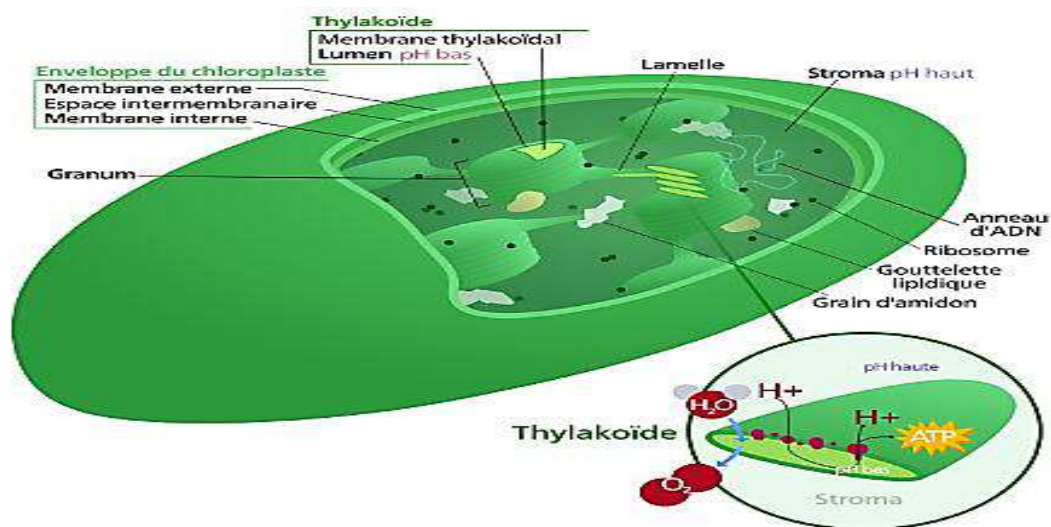


Figure 4: Schéma d'un chloroplaste (KELVINSONG, 2012).

L'étape photochimique (phase claire) se déroule dans les thylakoïdes des chloroplastes et nécessite de la lumière. La chlorophylle présente dans les chloroplastes joue un rôle important dans le métabolisme photosynthétique, en effet, c'est elle qui permet d'absorber les radiations rouges, violettes et certaines radiations bleues ; de plus elle permet de convertir l'énergie lumineuse absorbée sous une forme permettant les réactions de synthèse de se produire, comprenant des réactions photochimiques entraînant le transfert d'électrons extraits de l'eau vers le NADP⁺ et la création d'un potentiel électrochimique localisé de part et d'autre de la membrane des thylakoïdes permettant la synthèse d'ATP. Le transfert d'électrons de l'eau au NADP⁺ requiert de l'énergie, celle-ci provient des photosystèmes (LUCCHETTI, 2014 ; SAHOO, 2015 ; BENEDETTI et *al.*, 2018).

L'étape non photochimique (phase sombre) est séparée spatialement et temporellement de la phase claire. Elle comprend un ensemble de réactions enzymatiques

formant le cycle de Calvin au cours duquel le carbone est fixé et réduit pour donner des triose-phosphates. Les enzymes du cycle sont localisées dans le stroma et le cycle utilise les produits de la phase claire, ce qui conduit à la formation des glucides (BENEDETTI *et al.*, 2018 ; LUCCHETTI, 2014 ; SAHOO, 2015) (Fig.05).

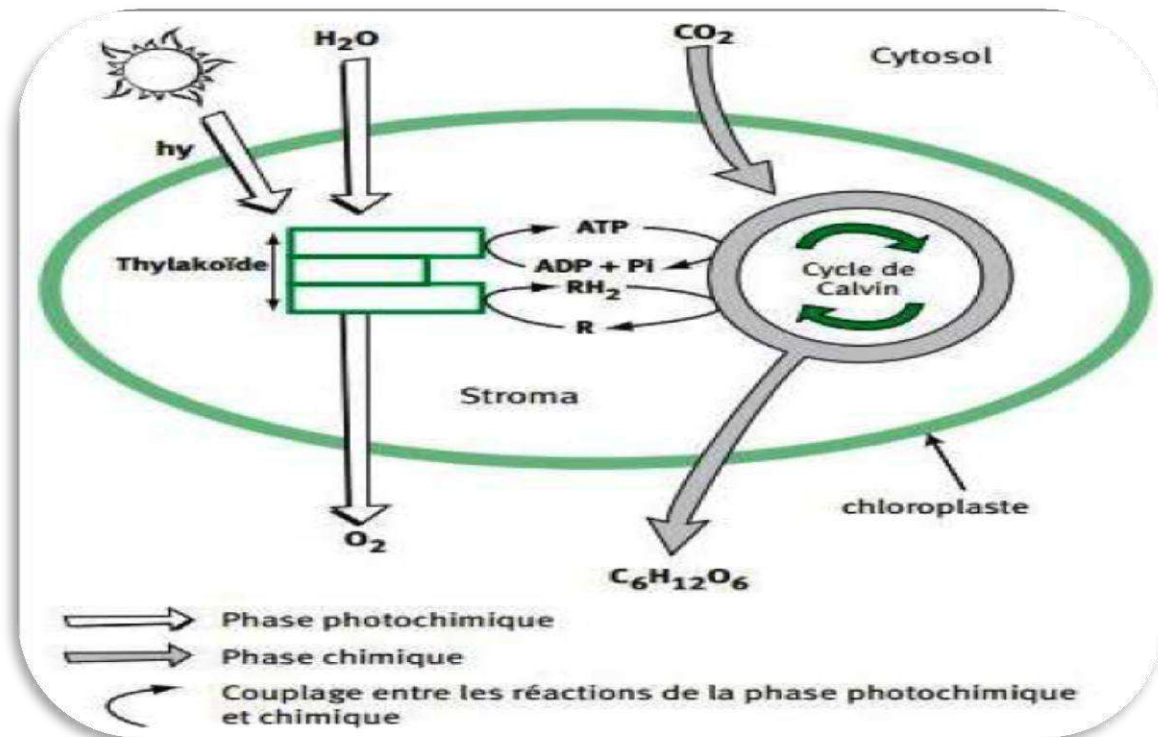


Figure 5: Phases photochimique et chimique de la photosynthèse (ANONYME ,2014).

I.6.-Systèmes de culture des microalgues

I.6.1.- Culture en photoautotrophie

I.6.1.1.- Système de culture fermé

Ce système est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture (BESSON, 2013 ; HARUN *et al.*, 2010). Il est réalisé à l'aide de photo bioréacteur qui est un système d'agencement de tube dans lequel le milieu de culture va circuler. La suspension microalgale circule du réservoir jusqu'aux tubes qui vont capter la lumière puis des tubes vers le réservoir, ils ont divers types tels que les réacteurs tubulaires (Fig.06), à panneau plat (Fig.07) ou cylindrique (Fig.08).

Les photobioréacteurs offrent différents avantages : ils permettent la culture des souches microalgales sensibles qui ne pourraient pas faire face aux microorganismes polluants installés dans les systèmes ouverts (Le système fermé est aucun apport ni prélèvement n'est réalisé, et garde un volume constant, ce qui limite la contamination par d'autres microorganismes). Ils nécessitent moins de lumière naturelle ou artificielle, et d'espace pour la culture des microalgues (BESSON, 2013). Les scientifiques préfèrent l'utilisation des photobioréacteurs, car ils assurent la croissance d'une seule espèce d'algue sans qu'elle rentre en compétition avec une autre espèce ou qu'elle soit contaminée (SADI, 2012).



Figure 6 : photobioréacteurs tubulaires de l'université de Wageningen Algae Parc (VIAN et *al.*, 2013).

La culture des microalgues en photobioréacteurs permet d'obtenir plusieurs sources d'énergie valorisables. L'un des inconvénients des photobioréacteurs est le risque d'encrassement et de « biofouling », c'est-à-dire la formation d'un biofilm s'accrochant sur les parois, diminuant la disponibilité de la lumière dans le photobioréacteur (LUCCHETTI ,2014).



Figure 7: photobioréacteurs plats (VIAN *et al.*, 2013).



Figure 8: photobioréacteur cylindrique (LABORATOIRE DE L'IFREMER, FRANCE).

I.6.1.2.-Systèmes ouverts (Raceways)

En comparaison avec le système fermé, le système ouvert, présente des avantages d'être moins cher, ne nécessite pas de larges surfaces, le besoin en énergie est faible, ainsi l'entretien et le nettoyage réguliers sont plus faciles (PERSON, 2010). Ce principe souffre souvent d'une double limitation par la lumière et par l'apport en carbone, du fait d'un contact important avec l'air ambiant (PRUVOST *et al.*, 2011).

Leur forme peut être circulaire ou allongée, unique ou connectée l'un et l'autre. L'eau est généralement maintenue en mouvement par des roues à aube ou des structures en rotation, et un certain mélange qui peut y être accompli par des guides bien conçus (PERSON, 2010).

La productivité maximale obtenue est de 50 grammes de microalgues par mètre carré par jour, ces étangs sont utilisés lors d'une culture continue, les nutriments sont ajoutés face à la roue à aube et la récolte se fait derrière la roue après un moment de circulation (SADI, 2012).



Figure 9: Culture de Spiruline en raceway, Californie (ANDERSEN, 2005).

I.6.2.-Culture en hétérotrophie

Les microalgues de métabolisme hétérotrophe sont principalement cultivées dans des bioréacteurs fermés appelés "fermenteurs" (SADI, 2012). Ces systèmes sont composés de microorganismes, des substrats organiques (Glucose) nécessaires pour leur croissance en plus des sels minéraux (C, N, K, Na, Fe,...), des catalyseurs pour démarrer ou accélérer une réaction et des produits synthétisés par ces microorganismes (BECERRA-CELIS, 2009).

La culture en hétérotrophie est moins chère que la culture photosynthétique en photobioréacteurs (TREDICI, 2004). Ce système nécessite des souches adaptées au mode de culture, des coûts d'installation et d'investissement importants dus aux réacteurs, et surtout des sources de carbone externes, stérilisées et en quantités équivalentes aux produits générés.

Les systèmes fermés étant beaucoup plus coûteux que les systèmes ouverts. Mais les systèmes fermés sont plus efficaces de par leur contrôle des conditions de culture, la limitation du risque de contamination, de l'évaporation de l'eau et de la perte de CO₂ (LUCCHETTI, 2014).

Cette technologie est utilisée pour la production de produits de haute valeur ajoutée (molécules organiques), il est à noter que ce système ne permet pas la production de pigments (PERSON, 2010).



Figure 10: Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues (FERMENATLG, 2013).

I.7.-Paramètres du développement des microalgues

La culture des microalgues est soumise à l'influence de plusieurs paramètres environnementaux physiques ou biologiques qui sont dépendants des caractéristiques intrinsèques de l'espèce algale et de la géométrie du système de production. Ces paramètres affectent non seulement l'activité photosynthétique et la productivité en biomasse, mais également le comportement physiologique et métabolique des microalgues dans la culture (RICHMOND, 2004). Les principaux paramètres régissant à la croissance des algues sont la quantité et la qualité des éléments nutritifs, la lumière, le pH, la turbulence, la salinité et la

température. Chaque espèce exige des paramètres optimaux qui se différencient d'une espèce à autre (ANDERSON, 2005 ; SINGH *et al.*, 2015; KRZEMIN´SKA *et al.*., 2013).

I.7.1.- Lumière

La Lumière est un des facteurs indispensables au métabolisme photosynthétique des microalgues. Les changements de quantité de lumière induisent des altérations de la composition biochimique des microalgues (KRZEMIN´SKA *et al.*., 2013).

Les meilleures vitesses de photosynthèse vont s'obtenir avec une alternance de périodes de lumière et d'ombre (BECERRA-CELIS, 2009) :

- Pendant la période de lumière, l'énergie lumineuse est absorbée et convertie en énergie chimique qui permet de produire des enzymes (NADPH₂ et ATP) et de l'oxygène,

- Pendant la période d'ombre, le NADPH₂ et l'ATP sont utilisés pour réduire le dioxyde de carbone et le transformer en molécules organiques.

I.7.2.-Température

C'est un facteur qui conditionne la conversion globale de l'énergie lumineuse et en conséquence la croissance cellulaire, l'exposition à des températures supérieures à 26°C ou inférieures à 21°C, entraîne une diminution sensible de la vitesse de multiplication voire un arrêt quasi-total de la croissance (BECERRA-CELIS, 2009).

I.7.3.-PH

Un contrôle du pH des cultures est nécessaire afin de favoriser la croissance de certaines espèces ayant des exigences environnementales particulières (SINGH *et al.* ; 2015).

De manière générale, la croissance algale est favorisée pour un pH proche de la neutralité

I.7.4.- Turbulence

L'agitation des cultures est très important pour l'efficacité de l'échange gazeux, la distribution égale des nutriments et métabolites ainsi que des énergies lumineuses, et pour éviter la sédimentation gravitationnelle des cellules d'algues (SINGH *et al.*., 2015).

I.7.5.- Nutrition

Les éléments nutritifs sont l'un des paramètres nécessaires pour les activités métaboliques des microalgues. On distingue : des composés de minéraux ; des macronutriments et des micronutriments.

-Les micronutriments, tels que le fer, le manganèse, le cobalt, le zinc, le cuivre et le molybdène sont nécessaires en petites quantités. Par exemple, le fer joue un rôle important dans la photosynthèse et la respiration (KIM, 2015).

-Les macronutriments sont l'azote, le phosphore, soufre, potassium et magnésium.

Le magnésium est un élément important, présent dans la chlorophylle, et un élément critique pour la réaction de photosynthèse aussi le potassium est nécessaire pour plusieurs enzymes et participe à la synthèse des protéines ainsi que la régulation osmotique (SYDNEY et *al.*, 2014).

Les composés de sels minéraux sont le carbone, hydrogène, et l'oxygène, en fonction de source de carbone, les microalgues peuvent être divisées en deux grands groupes : autotrophes et hétérotrophes (AMOR, 2015) ;

-Utilisation d'énergie solaire pour convertir des formes inorganiques de carbone (CO₂, carbonate ou bicarbonate) en produits organiques par les organismes autotrophes (LI et *al.*, 2012).

- Utilisent l'énergie chimique des formes organiques de carbone (acétate ou glucose) pour leurs activités métaboliques par les organismes hétérotrophes (LI et *al.*, 2012).

I.8.-Application des microalgues

Les microalgues ont été largement utilisées pour diverses applications incluant la nutrition humaine et animale, cosmétique, pharmaceutique, captage du CO₂, production de bioénergie et élimination des nutriments des eaux usées (VENKATESAN et *al.*, 2015).

Les propriétés biologiques des algues et leurs composants sont bien étudiés dans différents domaines de recherche par exemple antioxydants, antimicrobiens, agents anticancéreux, anti-inflammatoires, antidiabétique activité.

I.8.1.- Domaine alimentaire

Depuis des millénaires, macroalgues et microalgues sont récoltées pour un usage alimentaire. Utilisée par les Mayas, la plus connue dans ce domaine est une microalgue appelée *Arthrospira platensis*, ou Spiruline (Fig.11) (BECERRA-CELIS, 2009).

Les microalgues pour la nutrition humaine sont aujourd'hui commercialisées sous différentes formes telles que comprimés, gélules et liquides.

Elles peuvent également être incorporés dans les pâtes, les collations, les barres chocolatées ou les gommes et les boissons (SPOLAORE et *al.*, 2006), en plus elles sont considérées comme une source potentielle d'oméga 3 et 6 utilisés en nutrition humaine et animale (LUCCHETTI, 2014).

Elles devenues plus répandues dans les compléments alimentaires et les nutraceutiques sont *Nostoc*, *Botryococcus*, *Anabaena*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Synechococcus*, *Perietochloris*, *Porphyridium*, *Chlorella vulgaris* et *Daniella Salina* parce qu'ils contiennent des vitamines et des éléments essentiels tels que le potassium, le zinc, l'iode, le sélénium, le fer, le manganèse, le cuivre, le phosphore, le sodium, l'azote, le magnésium, le cobalt, le molybdène, le soufre et le calcium (VENKATESAN et *al.*, 2015; AMOR, 2015).



Figure 11: Forme nutritive des microalgues : La Spiruline (*Arthrospira Platensis*) (<http://nadquinn3.eklablog.com/la-spiruline-l-algoue-100-bienfaits-a126393522>).

I.8.2.-Domaine pharmaceutique

Les microalgues sont riches en composés actifs, qui peuvent être utilisés pour le développement pharmaceutique et nutraceutique, ils ont la capacité de produire des toxines qui peuvent être utilisées pour des applications pharmaceutiques (VENKATESAN et *al.*, 2015). Elles représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments (FILALI, 2012).

Les acides gras polyinsaturés(AGPI) qui sont produites par diverses microalgues, sont connus pour jouer un rôle important sont connus pour jouer un rôle important dans la réduction des maladies cardio-vasculaires, l'obésité, le métabolisme des cellules comprenant la régulation de la fluidité membranaire, le transport des électrons et de l'oxygène, ainsi que la capacité d'adaptation thermique (PERSON, 2010).

Les diatomées sont une sorte de microalgue et sont constituées de biosilice ; ils sont utilisés pour l'administration de médicaments en raison de leur taille de pore et de leur capacité de rétention des médicaments ; la diatomée biosilice a été utilisée pour charger plusieurs anti-inflammatoires et les libérer à un rythme soutenu (VENKATESAN et *al.*, 2015).

I.8.3.-Domaine cosmétique

Les extraits des microalgues ayant une activité antioxydante, sont exploités sur le marché dans la fabrication des produits de soin et développés sous forme de crèmes anti-âge, de soins rafraîchissants ou rajeunissants, d'hydratants et d'anti-irritants dans les exfoliants, les crèmes solaires et les produits de soins capillaires (FILALI, 2012 ; VENKATESAN et *al.* , 2015).

Certaines algues vertes sont bien reconnues dans les produits de soins de la peau tels que les crèmes anti-âge, les gommages, les produits de protection solaire et les produits de soins de la peau rafraîchissants et rajeunissants (Fig.12) (SAHOO et SECKBACH, 2015).

Les espèces les plus utilisées dans l'industrie cosmétique sont : la spiruline, *Chlorella*, *Arthrospira*, *Anacystis*, *Halymenia*, *Nannochloropsis* et *Dunaliella* qui favorisent la synthèse du collagène et ainsi prévenir éventuellement la formation de rides (STOLZ et OBERMAYER, 2005).



Figure 12 : Les algues vertes dans les cosmétiques (SAHOO ET SECKBACH, 2015).

I.8.4.-Domaine environnementale

Les principales applications environnementales sont le traitement des eaux usées et la consommation de CO₂ (VENKATESAN et *al.*, 2015).

Le traitement des eaux usées à base de microalgues repose sur leur action détoxifiante et dépolluante, grâce à leur capacité d'assimiler de nombreux nutriments et oligoéléments nécessaires à leur croissance elles peuvent éliminer certains éléments présents dans les eaux usées (VENKATESAN et *al.*, 2015 ; AMOR, 2015 ; BENEDETTI et *al.*, 2018 ; LUCCHETTI, 2014).

Les microalgues sont très utilisées dans le traitement des eaux usées et en décontaminant les milieux pollués et lutter contre l'eutrophisation, grâce à leur surface cellulaire spécifique étendue et à leur capacités de baisser les taux de phosphore et nitrate (ABDEL-RAOUF et *al.*, 2012; VENKATESAN et *al.*, 2015).

Les microalgues sont aussi capables de capter les métaux lourds et elles ont également un fort potentiel à diminuer l'accumulation de dioxyde de carbone dans l'atmosphère (LUCCHETTI, 2014).

Des travaux ont déjà été menés sur l'élimination des métaux lourds présents dans les eaux usées et sur la dégradation de contaminants toxiques comme le tributylétain « TBT » par *Chlorella vulgaris* (DEJOYE, 2013). Pour la consommation de CO₂, Les cellules de microalgues contiennent environ 45% à 65% de carbone, où 1 kg de biomasse sèche est produit en fixant environ 1,8 kg de CO₂ (CHISTI, 2007).

I.8.5.-Domaine énergétique

Les biocarburants obtenus à partir de matériaux organiques renouvelables se présentent comme une alternative aux énergies d'origine fossile pour réduire les émissions de gaz à effet de serre (GES) et assurer une indépendance énergétique (BECERRA-CELIS, 2009). Le biohydrogène issu de microalgues est une source d'énergie alternative (VENKATESAN et *al.*, 2015).

Le potentiel des microalgues pour la mise en place de nouvelles filières de bioénergie, à partir de leurs constituants polysaccharidiques (bioéthanol, biogaz) ou lipidiques (biodiesel, biokérosène) ou même directement de leur biomasse (voie thermochimique classique) est lié à leur grande biodiversité non encore complètement explorée, à leur productivité espérée et au fait que leur production n'entre pas en compétition avec les cultures vivrières.

Chapitre II :
Polysaccharides des algues



II.1.-Définition des polysaccharides

Le polysaccharide est une sorte de polymère macromoléculaire naturel, qu'est généralement composé de plus de 10 monosaccharides via des liaisons glycosidiques en chaînes linéaires ou ramifiées, avec un poids moléculaire de dizaines de milliers voire des millions (YU et *al.*, 2018; XIE et *al.*, 2015).

Le terme scientifique général pour un polysaccharide est glycane, un mot dérivé de (glyc-) pour sucré ou sucre et (-an) pour polymère, leur molécules peuvent être linéaires ou ramifiées. La formule générale peut également être représentée par $(C_6H_{10}O_5)_n$, où $n = 40$ à 3000. Ils sont le composant le plus important de la biomasse. On estime que plus de 90% de la masse de glucides dans la nature est sous forme de polysaccharides (BEMILLER ,2007)

Les monosaccharides sont porteurs d'au moins trois carbones (trioses), de deux fonctions alcools (OH), d'une fonction carbonyle (fonction aldéhyde (-CHO) ou cétone (-C=O)), et parfois d'une fonction amine (-NH₂) ou carboxylique (-COOH).

Les polysaccharides sont des molécules de haute masse molaire pouvant atteindre plusieurs millions de g/mol. Ils constituent plus de 80% de tout le matériel végétal (VILLAY, 2013 ; BENAOUN ,2017).

Il existe largement dans les plantes, les microorganismes, les algues et les animaux. Semblable à celui des protéines et des polynucléotides, le polysaccharide est macromoléculaire essentiel dans les activités de la vie et joue un rôle important dans la communication cellule-cellule, l'adhésion cellulaire et la reconnaissance moléculaire dans le système immunitaire (ZHANG et *al.* , 2020).

II.2.- Composition et structure des polysaccharides

Les polysaccharides sont présents dans tous les organismes vivants et présentent une grande variété de structures biochimiques basées sur des synthèses liées glycosidiquement de jusqu'à 40 à 50 monosaccharides différents (hexose et pentose), y compris de nombreux polysaccharides complexes (MAGER et THOMAS, 2011).

Le nombre d'unités monosaccharidique dans un polysaccharide, qui est appelé son degré de polymérisation (DP), varie avec le type de polysaccharide (BEMILLER ,2007).

Divers substitués tels que des groupes acyle, des acides aminés ou des sulfates peuvent être attachés à ce squelette linéaire ou ramifié. Ce large groupe de structures liées aux glycosides fournit une large gamme de structures différentes résultantes en feuille, en spirale et simple / triple (DELATTRE, 2016).

II.3.-Classification des polysaccharides

LEURINZO en 2018 montre que les polysaccharides peuvent être classés selon certains critères ; leur structure, solubilité, charge ionique et macromolécules ou dérivés (Tableau 01).

Tableau 1.-Critères de classification des polysaccharides (LEURINZO, 2018).

Critères de classification	Type	Exemples des polysaccharides
Selon l'origine	Végétale	L'amidon, la cellulose.
	Animale	héparine, chondroïtine.
	Algal	les alginates, l'agar les carraghénanes ou les fucanes.
	Microbienne	dextranes, xanthanes.
Selon leur composition chimique	hétéro-polysaccharides	Carraghénanes, gellane, Glycosaminoglycanes
	Homopolysaccharides	la cellulose, amidon, chitine, alginates et glycogène.
selon leur fonction biologique	Stockage d'énergie	Amidon, glycogène
	structural	cellulose, alginates, chitine
selon leur structure	linéaires	Amylose, alginates
	Ramifiée	Glycogène, amylopectine
selon leur solubilité	Soluble	alginates
	insoluble	cellulose
Selon leur modification chimique	dérivé	Chitosane Carboxy-méthyl-cellulose,
	original	.Chitine, cellulose
selon leur charge ionique	Anionique	Alginates, carraghénanes, fucoidien
	Cationique	Agarose, chitine
	Neutre	Chitosane

II.4.- Généralités sur les polysaccharides des algues

Les algues marines sont considérées comme des sources précieuses de composés bioactifs de structures diverses (NGOA et KIMA, 2013). Les trois grandes classes d'algues auxquelles appartiennent les espèces actuellement utilisées ont chacune leurs polysaccharides caractéristiques, sont essentiellement riche en polysaccharides sulfatés : acide alginique, laminaranes et fucanes des Phaeophyceae, galactanes sulfatés, carraghénane, et agar agar des Rhodophyceae, des polysaccharides complexes, souvent sulfatés comme l'ulvanes des Chlorophyceae (BRUNETON, 2009 ; LIU *et al.*, 2015).

Chez les microalgues, la synthèse des polysaccharides se produit dans l'appareil de Golgi, alors qu'elle est cytoplasmique pour les cyanobactéries (DELATTRE *et al.*, 2016).

Les microalgues peuvent excréter de grandes quantités de polysaccharides qui représentent une quantité considérable de carbone organique. De nombreuses microalgues, comme celles qui vivent dans des environnements benthiques proches du rivage. La production et la sécrétion de mucilage de polysaccharides pour recouvrir leurs cellules, vraisemblablement pour les protéger des fluctuations des conditions environnementales et / ou prédateurs (DELATTRE *et al.*, 2016).

Les polysaccharides algaux forment une vaste famille au sein de laquelle on distingue :

- ✓ Les polysaccharides de réserve (stockés à l'intérieur de la cellule).
- ✓ Les polysaccharides de faible poids moléculaire.
- ✓ Les polysaccharides de structure, c'est à dire ceux de la paroi.

II.5.-Différents types des polysaccharides des microalgues

Les microalgues produisent en fonction des espèces, des polysaccharides de structure également qualifiés de polysaccharides fibrillaires qui participent, à la formation de la paroi des cellules, des polysaccharides de réserve énergétique et des exopolysaccharides qui forment un mucilage autour des microalgues (VILLAY, 2015).

II.5.1.-Exo polysaccharides

De nombreuses espèces de microalgues peuvent accumuler des polysaccharides extracellulaires, comme une masse gélatineuse renfermant leurs cellules, que l'on appelle enveloppes, gaines ou capsules (CRISTINA, 2006).

La dénomination «exopolysaccharides» (EPS) ou «polysaccharides extracellulaires» (ECPS) comprend polysaccharides liés aux cellules et libérés. L'EPS associé à la surface cellulaire peut être appelé gaines, capsules et boues, en fonction de leur épaisseur, de leur consistance et de leur aspect (PEREIRA et *al.*, 2009). L'EPS des algues rouges a fait l'objet de recherches supplémentaires sur ses propriétés structurales car il a diverses applications médicinales et pharmaceutiques de grande valeur (GLOAGUEN et *al.*, 2004).

II.5.1.1.- Carraghénane

Le carraghénane est un polysaccharide linéaire sulfaté de D-galactose et de 3, 6-anhydro-D-galactose obtenu par extraction de certaines algues rouges de la classe des Rhodophycées (LI et *al.*, 2014).

C'est un composant naturel de certaines espèces d'algues rouges marines des familles *Gigartinaceae*, *Solieriaceae*, *Phylloporaceae*, *Hypneaceae*, *Furcellariaceae*, *Rhabdoniaceae*, *Rhodophyllidaceae* (BENCHAITA, 2014). Ce polysaccharide peut également être divisé en différentes familles : λ (Lambda), κ (Kappa), ι (Iota), ν (Nu), μ (Mu), θ (Thêta) et ξ (Ksi) (LI et *al.*, 2013 ; CHOUANA, 2017).

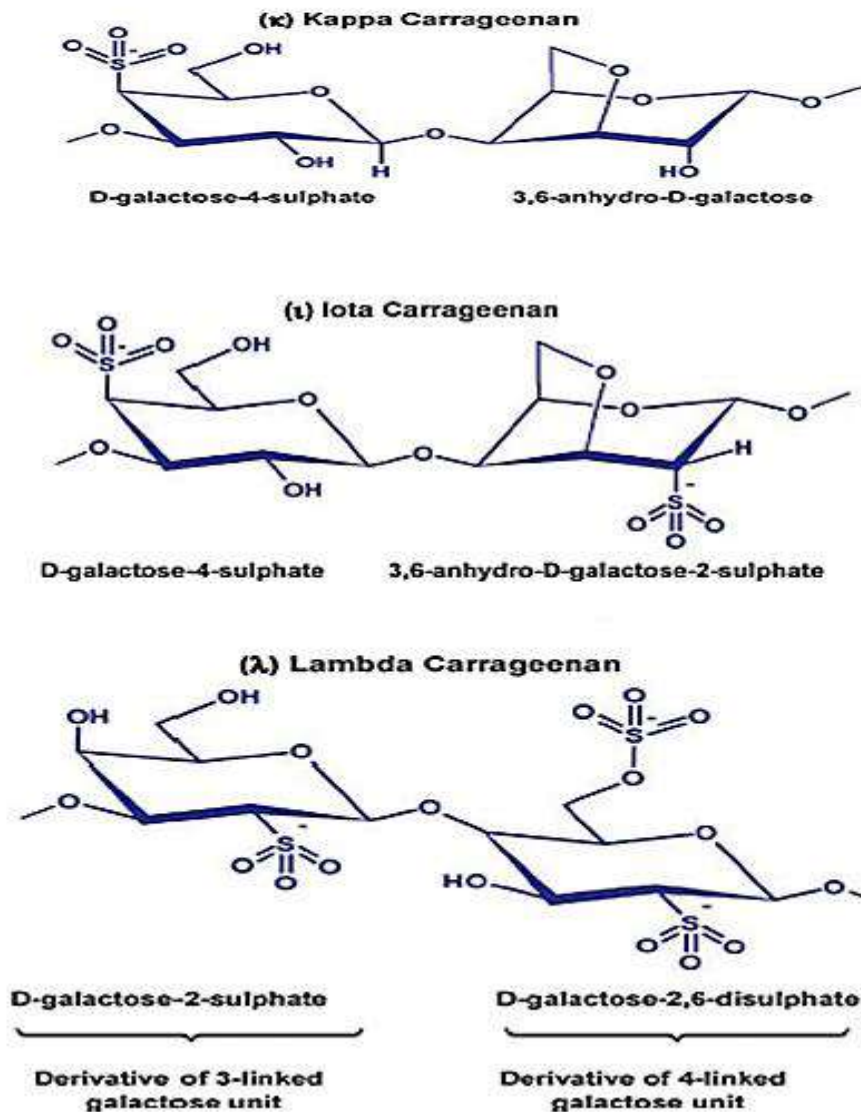


Figure 13: Représentation schématique d'unités répétitives idéalisées de carraghénaene (LI et al., 2013).

II.5.1.2.- Agars

L'agar est un polysaccharide extrait d'espèces spécifiques d'algues rouges marines appartenant à la classe Rhodophyceae. *Gelidium sp.* et *Gracilaria sp.* Sont les deux principales sources commerciales de ce polymère ; il forme un support dans les parois cellulaires des algues (MOSTAFAVI et ZAEIM, 2020). Il a la possibilité de donner des gels colloïdaux avec l'eau.

Il se compose d'unités de D-et L-galactose, associées en (1→3) et contient toujours un peu d'acide sulfurique. La gomme d'agar est une source importante de film biodégradable et

est le premier phycocolloïde utilisé dans la formulation de l'alimentation humaine, qui représente 80 % de tous les produits alimentaires (MOSTAFAVI et ZAEIM, 2020).

L'agarose est le principal composant des produits obtenus industriellement, principalement à partir d'algues marines des ordres *Gelidiales*, *Ahnfeltiales* et *Gracilariales*, commercialement connus sous le nom d'agar (SANCHEZ et al. ; 2019) .

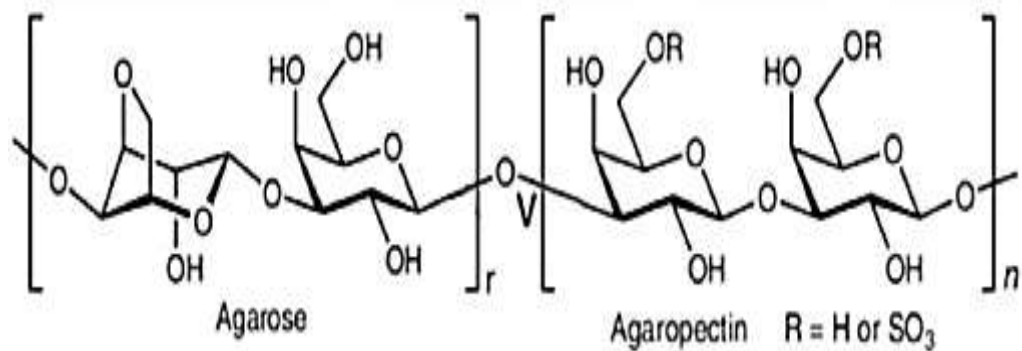


Figure 14 : Structure de l'agar (agarose + agarpectine) (TORRES et al., 2019).

II.5.1.3.- Alginates

L'alginate est un polysaccharide acide appartenant à la famille linéaire, le plus souvent isolé de l'algue brune; il a été largement étudié et utilisé dans de nombreuses applications biomédicales En raison de sa biocompatibilité, une faible toxicité, un coût relativement faible et la capacité de former un gel sous légères conditions en présence de cations divalents telles que Ca^{2+} (XING et al.; 2020).

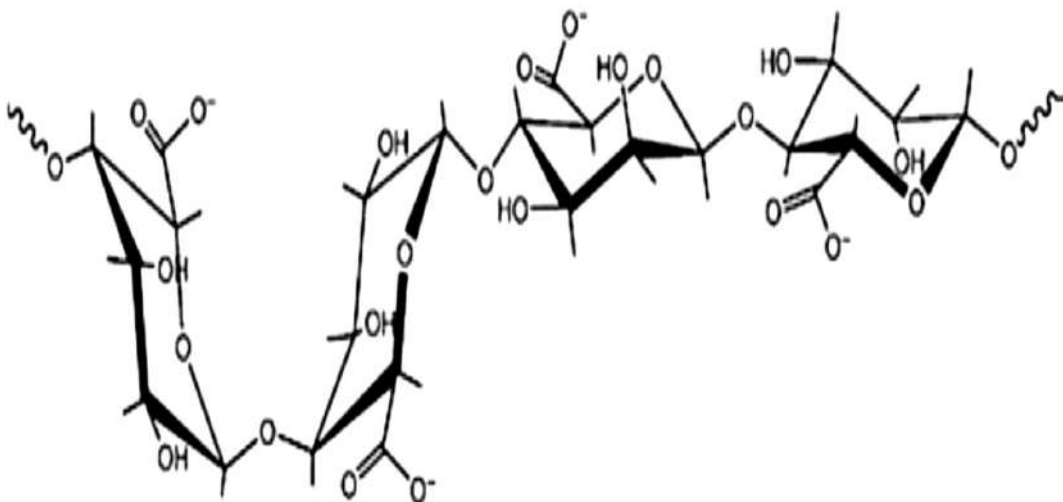


Figure 15: Structure des alginates (CHOUANA, 2017).

II.5.1.4.- Fucoïdanes

Le fucoidan est un polysaccharide sulfaté que l'on trouve dans un certain nombre de sources marines, notamment les concombres de mer ou les algues brunes (LUTHULI et *al* ,2019).

Il constitue une famille hétérogène de polymères à base unités L-fucose liées en α (1.2) et sulfatés en 4 dont la composition varie depuis les molécules riches en fucose vers des molécules, plus pauvres en cet ose comportant de grande proportions de galactose de xylose ou encore d'acide uronique (BENCHAITA, 2014).

II.5.1.5.- Ulvan

Ulvan, un polysaccharide sulfaté situé dans les parois cellulaires des algues vertes, il est isolé de nombreuses espèces d'Ulvaes (TZIVELEKA et *al.*; 2019).

IL est un hétéropolysaccharide qui représente de 8 à 29% du poids sec de la biomasse de l'Ulve ; Structurellement, l'ulvane est composé de rhamnose 3-sulfaté, d'acides uroniques (acide iduronique et acide glucuronique) et de xylose.

En outre, l'ulvan possède plusieurs unités disaccharidiques et possède un certain nombre d'activités physiologiques (Li et *al* .; 2020). Les principaux constituants de l'ulvane sont des unités disaccharidique de type 4- β -D-glucuronosyl-(1 \rightarrow 4)- α -L-rhamnose-3-sulfate-(1 \rightarrow , appelé acide aldobiouronique (CHOUANA, 2017).

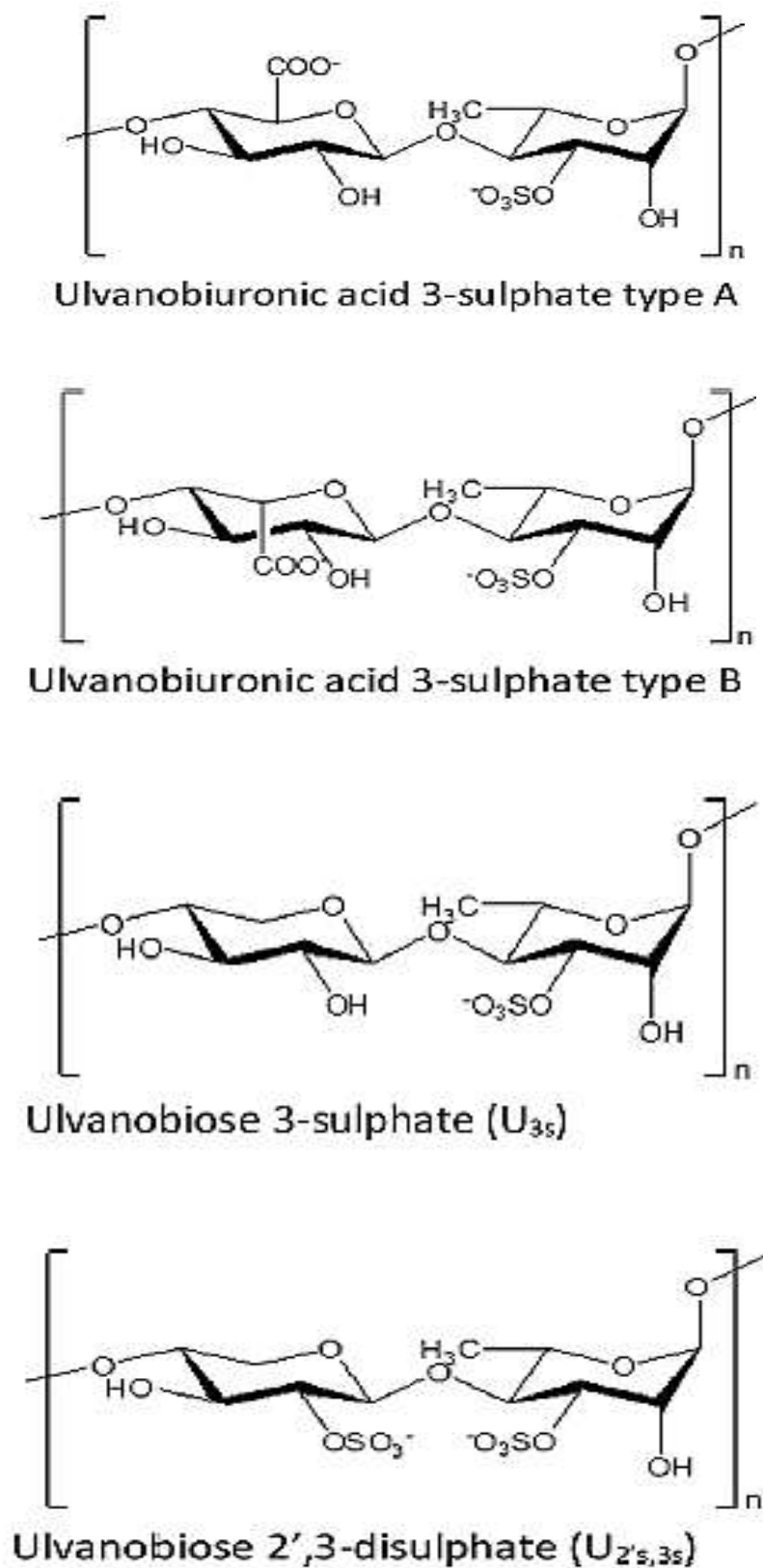


Figure 16: Structures des principaux disaccharides répétitifs constituant l'ulvan (TZIVELEKA et al.; 2019).

II.5.2.- Polysaccharides de réserve (intracellulaires)

L'amidon est le polysaccharide de réserve chez microalgues, il est constitué d'amylose et d'amylopectine (Fig.14), l'amylopectine c'est un polymère de glucose lié en $\alpha(1,4)$ et ramifié toutes les 12 unités en $\alpha(1,6)$, il est le constituant majeur de l'amidon (70 à 80%), l'amylose c'est un glucane linéaire lié en $\alpha(1,4)$, il constitue les 20 à 30% de l'amidon restant (RUIZ, 2005).

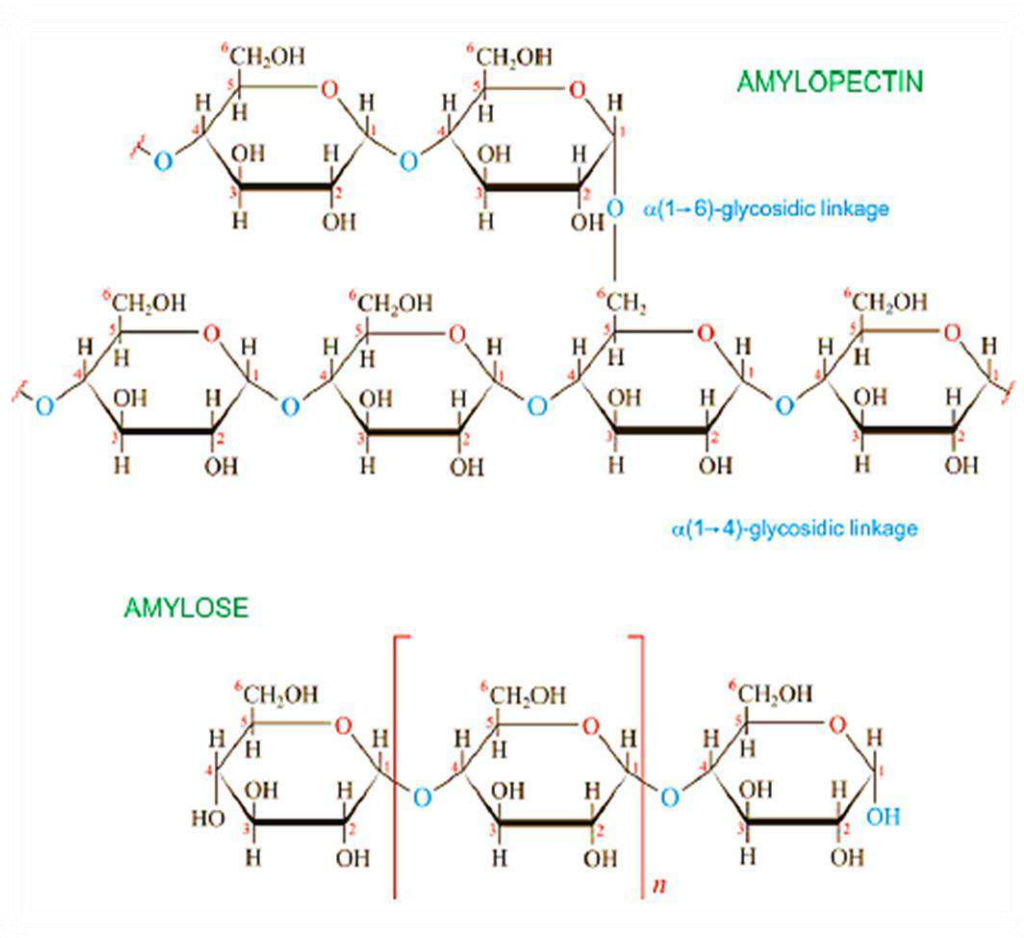


Figure 17: Structures de l'amylose et de l'amylopectine (VILLAY, 2015).

Les microalgues accumulent de l'amidon afin de constituer une réserve de carbone, et leur structure change avec l'espèce de microalgues.

La taille des molécules de réserve diffère, les Rhodophytes ont un amidon floridéen de grande taille : 100-200 MDa, alors que les Chlorophyceae (algues vertes) ont un amidon plus petit : 150-750 kDa et les Phaeophyceae (algues brunes) ont un très petit oside de réserve de 2-6 kDa (VILLAY, 2015).

II.5.3.-Polysaccharides de structure (fibrillaire)

Ils sont de nature cellulosique et/ou hémi cellulosique, Ce sont des polymères de glucose liés en β -(1,3) et dans certaines espèces on peut trouver de Xylose ou de Mannose comme polysaccharide fibrillaire (VILLAY, 2015).

La cellulose ne représente que 1  9 % de la masse sèche des parois cellulaire d'algues rouge alors que les parois des plantes supérieures ; elle est également fortement présente dans les parois des algues vertes contrairement aux algues brunes où sa proportion ne dépasse 20% en poids sec de l'algue(GARON-LARDIERE , 2004).

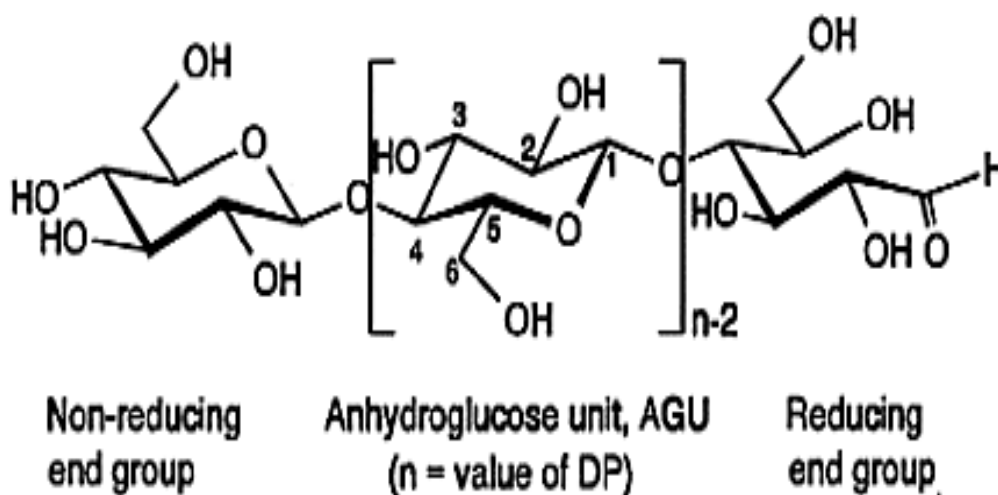


Figure 18: Structure de la cellulose (HEINZE et LIEBERT, 2011).

II.6.- Activités biologiques et applications des polysaccharides

Les polysaccharides d'algues marines sont souvent étroitement liés aux activités pharmacologiques telles que anticoagulant, antioxydant, antitumorale et immunomodulatrice.

En général, l'application des polysaccharides peuvent être divisés en deux catégories: l'une est l'utilisation de gel de polysaccharide facile à former, à haute pression osmotique, haute viscosité et absorption d'eau et autres physiques et propriétés chimiques pour préparer des matériaux pharmaceutiques, libération de médicaments agents et substituts du plasma; l'autre est les activités biologiques de Polysaccharides, leur antigénicité, anti-tumorale et autres fonction pour préparer des vaccins ou de nouveaux médicaments (YUA et *al.*, 2018).

II.6.1. - Applications thérapeutiques

II.6.1.1.- Activité anti-tumorale

Le polysaccharide fibrillaire de *Chlorella vulgaris* est un glucane de β -(1,3) avec un potentiel d'activité antitumorale et immunostimulante (PIGNOLET et al., 2013).

Le polysaccharide sulfaté p-KG03 qui est purifié à partir des microalgues marines *Gyrodinium impudium* peut induire la production d'oxyde nitrique (NO) et stimuler la production de cytokines via le JNK dépendant voie dans les macrophages pour empêcher la croissance des cellules tumorales à la fois in vitro et in vivo (YUA et al., 2018).

Le polysaccharide de *Porphyridium sp a* également un effet antiviral contre le virus de l'herpès (HSV-1 et -2) sans présenter d'effet toxique (VILLAY, 2015).

Les oligosaccharides d'alginate ont un rôle dans l'inhibition de la prolifération et de la migration des cellules cancéreuses, la régulation des réponses de défense immunitaire et le renforcement des capacités antioxydantes et anti-inflammatoires (XING et al., 2020).

II.6.1.2.-Activités Anti-inflammatoires et immunomodultrices

Les polysaccharides en particulier ont attiré une attention remarquable et jouent des rôles divers et importants dans de nombreux processus biologiques en raison de leur diversité structurelle, de leur faible toxicité et de leurs activités biologiques distinctes, en particulier la régulation du système immunitaire et les EPS de *P.cruentum* sont également décrits pour leur activité antitumorale et immunomodultrice (YUA et al., 2018).

Ils améliorent la réponse immunitaire en stimulant la prolifération des macrophages et des lymphocytes (VILLAY, 2015).

L'une des fonctions clés de l'alginate et des oligosaccharides d'alginate dans l'immunrégulation, abordée par plusieurs études, est l'induction de l'activité des cytokines (XING et al., 2020).

Le fucoïdien possède une activité contre divers virus à ARN et à ADN à la fois in vivo et in vitro, y compris des agents pathogènes humains importants tels que le VIH, le VIH 1-2 et le VIH, dengue et cytomégalovirus (AHMADI et al., 2015). Une enquête a révélé que divers

fucoïdiens pouvaient supprimer l'infection des cellules Jurkat en utilisant particules pseudo-VIH-1 contenant des protéines d'enveloppe du VIH-1 (LUTHULI et al ., 2019).

II.6.1.3.-Activité anti diabète

Le diabète sucré (DM) est devenu l'une des maladies chroniques qui menacent gravement la santé humaine avec une morbidité et une mortalité élevées après les maladies cardiovasculaires et le cancer (YU et al ,2018).

Ces dernières années, un grand nombre de polysaccharides et oligosaccharides différents ont été étudiés et leur activité antidiabétique a été démontrée, par exemple l'alginate oligosaccharide sulfate qui présente de forts effets hypoglycémiants (XING et al, 2020).

Dans le traitement du diabète de type II, il a été constaté que la prise de 5 g d'alginate de sodium chaque matin prévenait une augmentation postprandiale des taux de glucose, d'insuline et de peptide C et ralentissait le transit gastrique (KAAN, 2012).

II.6.1.4.-Activité antioxydante et dépollution des radicaux libres

Des études sur l'activité antioxydante ont démontré le potentiel de l'ulvan (un polysaccharide sulfaté situé dans les algues vertes) en tant qu'antioxydant naturel qui protège le foie du stress oxydatif causé par un régime riche en cholestérol (TZIVELEKA et al ., 2019). Dans un autre rapport, ils ont trouvé une corrélation positive entre la teneur en sulfate et l'activité antioxydante (LI et al., 2014).

Les polysaccharides sulfatés libérés par les microalgues ont la capacité d'empêcher l'accumulation et l'activité des radicaux libres et des espèces chimiques réactives qui peuvent affecter la sécurité des produits pharmaceutiques et également diminuer la qualité nutritionnelle des aliments (RAPOSO et al ., 2013).

II.6.2.- Applications industrielles

Les polysaccharides de microalgues peuvent être convertis en éthylène, propylène, acide adipique et furabiques (KRZEMINSKA et al., 2013).L'industrie a d'abord été exploitée pour ses propriétés rhéologiques en tant qu'agents épaississants ou gélifiants (DELATTRE et al.,2016; KRAAN, 2012).

Des films de mélange ternaire agar/collagène/alginate contenant un extrait de pépins de raisin et des nanoparticules d'argent ont été utilisées comme matériau d'emballage pour prolonger la durée de conservation des pommes de terre fraîches (MOSTAFAVI et ZAEIM, 2020).

Le carraghénane est largement utilisé dans l'industrie alimentaire en raison de ses excellentes propriétés fonctionnelles physiques, telles que la gélification, l'épaississement, capacités émulsifiantes et stabilisantes, et a été utilisé pour améliorer la texture du fromage cottage, des puddings et des desserts laitiers (Ils sont utilisés comme additifs alimentaires (E407)) et comme liants et stabilisants dans l'industrie de transformation de la viande pour la fabrication de saucisses galettes et hamburgers faibles en gras, en plus de ces application il est également utilisé dans les dentifrices, les mousses anti-incendie, les crèmes cosmétiques, les shampoings et les cirages à chaussures(LI et *al.* , 2013 ; CHOUANA, 2017).

Ulvan est utilisée comme un matériau prometteur pour les applications dans le pharmaceutique (TZIVELEKA et *al.*; 2019).

Les films à base d'agar sont utilisés pour améliorer la qualité et la durée de conservation des produits alimentaires (MOSTAFAVI et ZAEIM, 2020).

Partie 2 :
Etude expérimentale



Chapitre III :
Matériel et méthodes



III.1.- Principe de l'étude

Cette étude concerne la culture et l'extraction de polysaccharides hydrosolubles à partir d'une souche d'algue verte ; *Chlorella vulgaris* et la détermination des teneurs en oses totaux, neutres et acides uroniques par méthodes colorimétriques. Cette étude vise ainsi à évaluer son activité antihyperglycémiant.

III.2.-Présentation de la souche

Chlorella vulgaris est une espèce de microalgue verte unicellulaire comestible, qui était largement étudié en raison de son taux de croissance rapide, teneur élevée en composants précieux, elle est utilisée comme complément alimentaire (ZHANG et al., 2019). Elle est découverte par un chercheur hollandais M.W. BEIJERINCK en 1890.

Cette microalgue a une taille qui varie de 3 à 5 µm et elle contient un chloroplaste pariétal qui se compose des caroténoïdes, de la chlorophylle a et b (AMOR, 2015). Elle a un mode de reproduction asexuée, la cellule-mère se divisant en quatre spores qui s'échappent et germent pour donner un organisme identique à celui qui les a produit (RICHMOND, 2004).

Tableau 2.-Classification de *Chlorella vulgaris*

<i>Chlorella vulgaris</i> (BEIJERINCK, 1890).	
Domaine	Eukaryota
Règne	Plantae
Embranchement	Chlorophyta
Classe	Trebouxiophyceae
Ordre	Chlorellales
Famille	+
Genre	Chlorella

III.3.-Culture de la biomasse

Chlorella vulgaris appartient au chlorophytae a été isolée de la région d'Ouargla en 2019 on utilisant des techniques de base de bactériologie. Pour vérifier que la souche est pure (axénique), on effectue des observations microscopiques à des différents grossissements (x10 et x100) à l'aide d'un microscope optique.

La souche est mise en place en culture en mode photoautotrophie dans le milieu BBM "Bold's Basal " dans des erlenmeyers de 500 ml (Fig.19) selon les conditions (température 25 °C, lumière 16/8h jour/nuit, pH : 6.6 avec agitation).



Figure 19: La culture de la souche dans les erlenmeyers.

Remarque :

-La culture est faite dans une chambre adoptée pour la culture des microalgues.

-Température : Maintenir à 25 °C par un climatiseur.

-La culture est sous la lumière avec un cycle 16/8h jour/nuit : L'éclairage artificiel par ampoules pour le maintien de la culture, les types les plus courants étant les ampoules «blanc froid» ou «lumière du jour» (elles sont contrôlées par un minuteur).

-L'agitation : est assurée par une pompe d'aquarium.

-Le milieu de culture est « Bold's Basal » BBM, qui est généralement utilisé pour plusieurs microalgues d'eau douce et cyanobactéries (ANDERSON, 2005 ; DAYANANDA *et al.*, 2007).

Tous les composants du milieu de culture sont préparés en tant que solutions de stock avant de les mélanger pour éviter des combinaisons directes de plusieurs composés qui peuvent résulter une précipitation indésirable, les éléments utilisés et leur quantité et concentration sont présentés dans l'annexe 01.

III.4.- Développement de la biomasse microalgale

Pour suivre la croissance de la souche microalgale, on fait la culture dans un système fermé (culture en batch) selon les conditions (température 25 °C, la lumière 16/8h jour/nuit, pH : 6,6 et l'agitation).

À partir des 03 erlenmeyers de 500ml (Fig. 19), on prélève chaque jour un volume de 5ml (Annexe 2) durant 10 jours et on mesure la densité optique par un spectrophotomètre à fin de déterminer la courbe de croissance.

III.5.- Extraction des exopolysaccharides

Les polysaccharides extracellulaires solubles sont séparés de la biomasse par centrifugation à 4000 t/min pendant 15 min à la température ambiante (DELATTRE *et al.*, 2016 ; BELHAJ *et al.*, 2017). Après la centrifugation de la biomasse, le surnageant est récupérée puis concentrée au 1/10 (150 ml) du volume initial, dans le rotavapor (AI *et al.*, 2012; VILLAY, 2015). Une deuxième centrifugation à 4000 durant 10 min est effectuée afin d'éliminer les débris de la solution concentrée. Pour précipiter les EPS, 1/3 de volumes d'éthanol 96% froide (-20°C) est ajouté à la solution, puis met dans un réfrigérateur à 4°C pendant 24h, après cela est centrifugée à 4000 t/min pendant 15min (DELATTRE *et al.*, 2016 ; BELHAJ *et al.*, 2017; CHEN *et al.*, 2010). Le précipitât est purifié après avoir été lavé 03 fois par l'acétone (AI *et al.*, 2012), à chaque fois on ajoute un volume d'acétone et centrifugée pendant 10 min à 4000 t/min. Le surnageant est éliminé et le culot qui représente l'extrait brut d'exopolysaccharides hydrosolubles récupéré et laissé à sécher (Fig.20) (ZHAUYNBAEVA *et al.*, 2010).

- Calcul de rendement

Pour déterminer le rendement d'extraction, la quantité obtenu est pesé (M). La masse d'algue sèche est obtenu après le séchage de culot (M_0).

Le rendement est calculé par la formule :

$$R(\%) = (M/M_0) \times 100$$

R : Rendement en % ; **M** : Poids de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles ;

M₀ : Poids de la matière algale sèche.

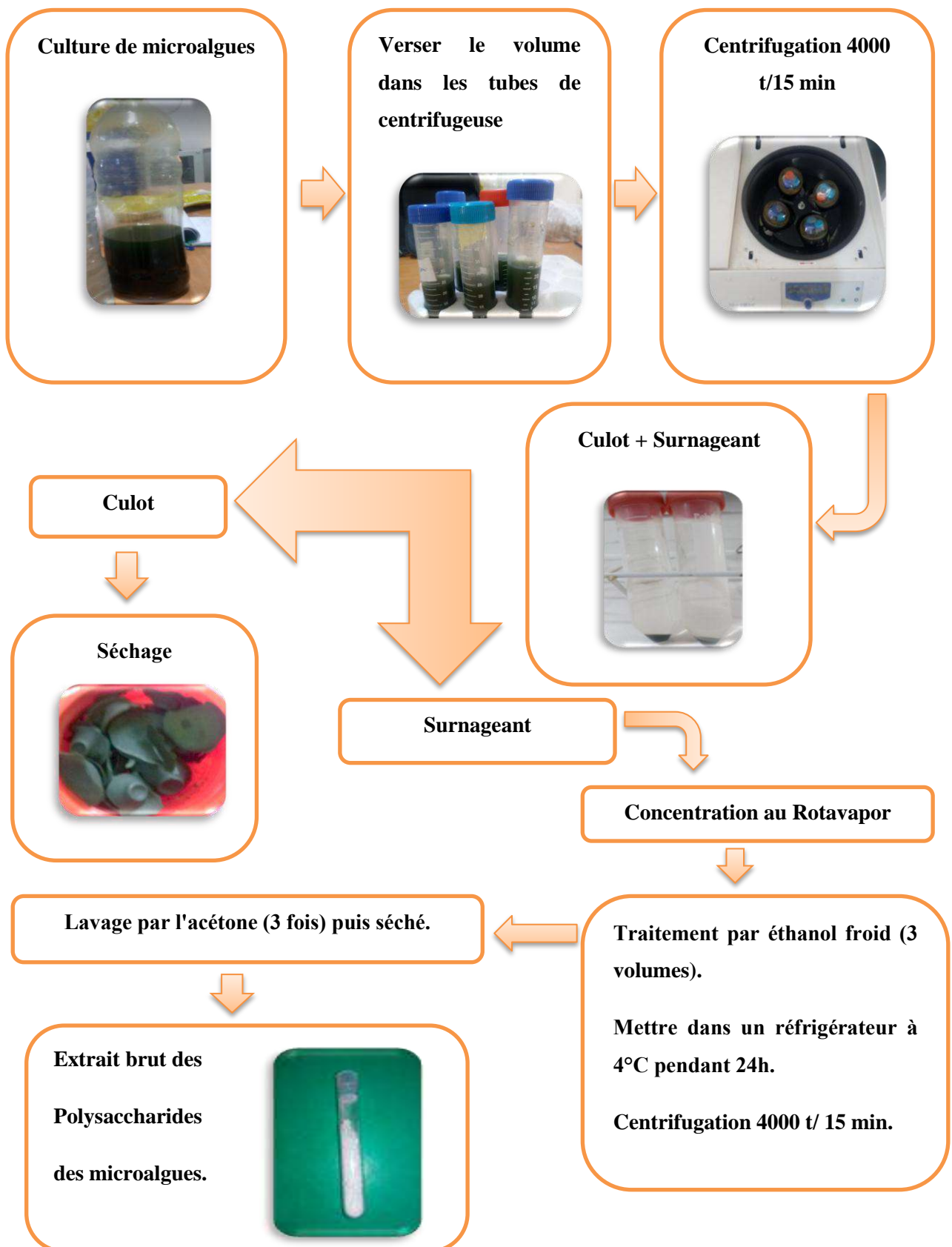


Figure 20: Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des microalgues (ZHAUYNBAEVA *et al.*, 2010 ; CHEN *et al.*, 2010; VILLAY, 2015 ; DELATTRE *et al.* , 2016 ; BELHAJ *et al.* , 2017 ; AI *et al.*, 2012).

III.6.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

Les teneurs en oses totaux, neutre et uronique sont déterminés par des dosages colorimétriques.

III.6.1.- Dosage des oses totaux

Les oses totaux dans l'extrait brut polysaccharidique d'échantillon microalgale ont été déterminés selon la méthode DUBOIS *et al.* (1956). En utilisant dans ce dosage le phénol, l'acide sulfurique et D-glucose comme standard à 483 nm.

III.6.1.1.- Principe

Les liaisons glycosidiques sont hydrolysées, à chaud, en présence d'acide sulfurique concentré et la déshydratation des unités osidiques conduit à la formation de composés furfuriques.

Les furfurals et ses dérivés ont la propriété de se condenser avec le phénol pour former des complexes jaunes-orangés. L'apparition de ces complexes est suivie en mesurant l'absorbance à 483 nm qui permet de déterminer la concentration en oses totaux de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO=f(c)$ dont le glucose est utilisé comme étalon (VILLAY, 2013).

III.6.1.2.-Matériel et réactifs

Acide sulfurique 95-97%. Phénol. Glucose. Eau distillé. Echantillons à analyser. Bain marie. Spectrophotomètre UV-Visible.

III.6.1.3.-Préparation de la solution mère de glucose

La solution mère du glucose est préparée par 0,01g du glucose dans 100ml d'eau distillée.

III.6.1.4.- Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

Pour préparer cette solution, 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 10 ml d'eau distillée.

III.6.1.5.- Préparation de la solution de phénol

La solution est préparée avec 1g du phénol (5%) dans 20 ml d'eau distillée.

III.6.1.6.- Préparation de la gamme d'étalonnage du glucose**Tableau 3.-** Préparation des étalons de glucose

	Blanc	0,002%	0,004%	0,006%	0,008%	0,01%
Eau Distillée (ml)	1	0,2	0,4	0,6	0,8	0
Glc 0.01% (ml)	0	0,8	0,6	0,4	0,2	1
Concentration (mg.l⁻¹)	0	20	40	60	80	100

III.6.1.7.- Mode opératoire

- Dans des tubes à essai en verre, placer une quantité de 200µl de l'échantillon ainsi que 200 µl des solutions du glucose constitutive de la gamme d'étalonnage sont préparées simultanément dont les concentrations varient de 0,002 à 0,01% (Annexe 04)
- Additionner 1ml d'une solution aqueuse de phénol à 5 %.
- Agiter le mélange au vortex.
- Ajouter rapidement 1 ml d'acide sulfurique (95%) dans le milieu réactionnel.
- Porter les tubes préparés au bain-marie à 100°C pendant 5 minutes.
- Après refroidissement dans un bain de glace, placer dans l'obscurité pendant 30 min.
- Lire la densité optique à 483 nm sur un spectrophotomètre UV-visible.

II.6.2.- Dosages des oses neutres

La concentration en oses neutres de l'extrait a été déterminée par la méthode de MONSIGNY *et al.* (1988).

III.6.2.1.-Principe

Les liaisons glycosidiques subissent une hydrolyse, à chaud, en présence d'acide sulfurique. La déshydratation des unités osidiques conduit à la formation de composés furfuriques. Ces derniers interagissent avec les composés phénoliques (1,3-dihydroxybenzène) par condensation pour former des composés de couleur orangée absorbant à $\lambda=480$ nm.

III.6.2.2.-Matériel et réactifs

Résorcinol. Acide sulfurique 95-97%. Solution aqueuse d'acide sulfurique à 80%. Solution aqueuse de résorcinol à 0,6% (conservée à 4°C à l'abri de la lumière). Eau distillée. Echantillons à analyser. Bain marie. Spectrophotomètre UV-Visible.

Tableau 4.- Préparation des étalons de glucose pour les oses neutre (RUIZ, 2005)

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau Distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glc 0.01% (ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.l ⁻¹)	0	10	20	50	80	100

III.6.2.3.-Préparation de la solution du résorcinol

La solution du résorcinol 0,6% est préparée avec 0,3g du résorcinol dans 50ml d'eau distillée selon la méthode de MONSIGNY *et al.* (1988) modifiée.

III.6.2.4.-Mode opératoire

Dans des tubes à essai en verre mélanger :

- 200 µl de la solution polysaccharidique ou de l'étalon.
- 200 µl de la solution du résorcinol à 0,6%.
- Agiter le mélange puis ajouter rapidement 1ml d'acide sulfurique et les boucher.
- Faire chauffer le mélange au bain Marie à 90 °C pendant 30 min (une coloration jaune brun apparaît progressivement).
- Après refroidissement dans un bain de glace, placer les échantillons dans l'obscurité pendant 30 min.
- Lire la densité optique à 480 nm sur un spectrophotomètre UV-visible. La concentration en oses neutres est obtenue par référence à une gamme étalon de glucose réalisée à des concentrations comprises entre 0,001% et 0,01% (Annexe 04).

III.6.3.-Dosage des acides uroniques

La concentration en oses acides a été déterminée par la méthode de BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANSEN (1973) modifiée par FILISETTI-COZZY *et al.* (1991).

III.6.3.1.- Principe

En présence d'acide sulfurique concentré et à chaud, les liaisons glycosidiques des poly- et oligosaccharides subissent une hydrolyse quantitative. La déshydratation des unités osidiques libérées conduit à la formation de dérivés furfuriques. En se complexant avec le méta-hydroxydiphenyl (m-HDP), ils forment des composés de couleur rose rouge absorbant à 524 nm (DELATTRE, 2005 ; VILLAY, 2013). Le m-hydroxydiphényle en présence de tétraborate de sodium sert de chromophore sélectif lors du dosage des acides uroniques (RUIZ, 2005).

III.6.3.2.-Matériel et réactifs

Acide sulfurique 95-97%. Tétraborate de sodium. *mé*ta-hydroxydiphényl (*m*-HDP). Solution aqueuse de tétraborate de sodium à 0,12M dans de l'acide sulfurique à 96% (conservée à 4°C à l'abri de la lumière).Eau distillée. Echantillons à analyser. Bain marie. Spectrophotomètre UV-Visible. Acide glucuronique.

III.6.3.3.-Préparation de la solution de borax

La solution de borax (0,12 M) est préparée, en solubilisant 0,0125g de tétraborate de sodium ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7, 10\text{H}_2\text{O}$) dans 20 mL d'acide sulfurique 96 % (m/v). Cette solution est conservée à 4°C à labri de la lumière.

III.6.3.4.-Préparation de La solution (m-HBP)

Pour préparer la solution de méta-hydroxybiphényle (*m*-HBP), une quantité de 40mg de NaOH est dissous dans 8ml d'eau distillée, puis 12 mg de *m*-HDP est ajouté. Cette solution est conservée à 4°C.

Tableau 5.- Gamme étalon d'acide glucuronique.

	Blanc	0,002%	0,004%	0,006%	0,008%	0,01%
Eau Distillée (ml)	1	0,2	0,4	0,6	0,8	0
Glc.A(ml)	0	0,8	0,6	0,4	0,2	1
Concentration (mg.l⁻¹)	0	20	40	60	80	100

III.6.3.5.- Mode opératoire

- Ajouter 1,2 ml d'une solution de tétraborate de sodium à 0,125M dans l'acide sulfurique concentré à 200 µl de solution polysaccharidique à doser ;
- Après agitation, incuber les tubes dans un bain la glace pendant 5 min ;
- Porter les échantillons à 100°C au bain-marie durant 5 min ;
- Ajouter 20 µl d' *m*-HDP (métahydroxydiphényle) ;
- Après agitation, une coloration rose se développe pendant 5 min ;
- Réaliser la lecture des densités optiques à 524 nm.
- La concentration en acides uroniques est obtenue par référence à une gamme étalon d'acide glucuronique réalisée à des concentrations comprises entre 0,002% et 0,01%.

III.7.-Activités biologiques de l'extrait polysaccharidique

La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité anti-hyperglycémiant des exopolysaccharides des microalgues.

III.7.1.- Activité antihyperglycémiant

Le diabète, communément appelé le diabète sucré, est une maladie métabolique qui se traduit par une hyperglycémie chronique (MOREL *et al.*, 2012) résultant d'un défaut de la sécrétion ou de l'action de l'insuline ou de ces deux anomalies associées.

L'étude de l'activité antihyperglycémiant des polysaccharides porte sur la détermination de leur pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase.

L' α -D-glucosidase de mammifères, situé au niveau de bordure en brosse à la surface de la membrane des cellules intestinales, est l'enzyme clé catalysant la dernière étape dans le processus digestif des glucides. La présence des inhibiteurs de l' α -D-glucosidase peuvent retarder la libération du glucose à partir des glucides complexes alimentaires et retarder son absorption, ce qui entraîne une réduction du taux de glucose sanguin postprandial plasmatique et suppression de l'hyperglycémie postprandiale (ZHANG et LI, 2015). Parmi ces inhibiteurs: l'acarbose, miglitol et voglibose qui sont des inhibiteurs compétitifs de l' α -D glucosidase intestinale, réduisent la glycémie postprandiale en retardant la digestion et l'absorption de l'amidon et disaccharides dans le diabète sucré de type 2.

Le test de détermination du pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase est basé sur la mesure de la libération de p-nitrophénol (p-NP) dont l'enzyme catalyse la dégradation du p-nitrophényl- α -Dglucopyranoside (p-NPG) en α -D-glucopyranoside et p-Nitrophénol.

L'acarbose est utilisé comme control positif. Le contrôle négatif représente le milieu réactionnel de l'enzyme α -D-glucosidase sans aucun aditif.

III.7.1.1.-Préparation des solutions et réactifs

La préparation se fait selon les méthodes de BISHT *et al.* (2013); QIAN *et al.* (2015) modifiées.

III.7.1.2.-Préparation de la solution de l'acarbose

Pour préparer une solution de l'acarbose de 100mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 μ l d'eau distillée.

III.7.1.3.-Préparation des dilutions de l'acarbose

Une gamme de dilution allant de 0,01 à 100 mM est préparée à partir de la solution mère d'acarbose 100mM.

III.7.1.4.-Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100µl)

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 100µl d'eau distillée.

III.7.1.5.-Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

Tableau 6.- Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique.

	Blanc	10%	25%	50%	75%	100%
Solution mère (µl)	0	10	50	100	150	200
Eau distillée (µl)	200	190	150	100	50	0
Concentration (mg.ml-1)	0	10	25	50	75	100

III.7.1.6.-Mode opératoire (BISHT et al., 2013; QIAN et al., 2015)

Dans un tube sec, ajouter un volume de 500µl de la solution de l' α -D-glucosidase ;

- Ajouter 10µl de l'acarbose pour le contrôle positif, de l'extrait polysaccharidique pour le test, ou de l'eau distillée pour le contrôle négatif;
- Incuber le mélange pendant 15 min à 37° C;
- Ajouter un volume de 125µl de la solution du substrat (p-NPG) préalablement incubé à 37° C;
- Faire agiter bien le tube pendant une minute;
- Après 2 min d'incubation, lire l'Absorbance à 405 nm et suivre la cinétique enzymatique de l' α -D-glucosidase en mesurant l'Absorbance chaque 12 sec pendant 3 min de réaction par un spectrophotomètre UV- Visible.

Tableau 7: Test de l'activité antidiabétique

Contrôle positif	p-NPG α-D-glucosidase acarbose
<i>Chlorella vulgaris</i> (échantillon)	p-NPG α-D-glucosidase polysaccharides
Contrôle négatif	p-NPG α-D-glucosidase L'eau distille

- Calcul de pourcentage d'inhibition (XU *et al.*, 2014; ZANG et LI, 2015)

Le % d'inhibition est calculé selon la relation suivante :

Pourcentage d'inhibition = ΔA Contrôle négatif - ΔA échantillon / ΔA Contrôle négatif

Chapitre IV:
Résultats et discussions



IV.1.-Culture de la biomasse

L'observation microscopique à G x10 et Gx100 (Fig.21). Nous assure que la souche microalgale cultivée en milieu BBM est pure, on observe que des cellules vertes avec formes identique (une culture axénique).

Ce résultat indique que le milieu de culture que nous avons choisi était adapté et notre travail était selon des conditions stériles (tous les appareils et matériel utilisés sont stériles).

Des mesures extensives doivent être prises pour maintenir les cultures unialgales pures chimiquement et biologiquement propres. La contamination chimique peut avoir des effets non quantifiables, souvent délétères et donc indésirables sur la croissance des algues.

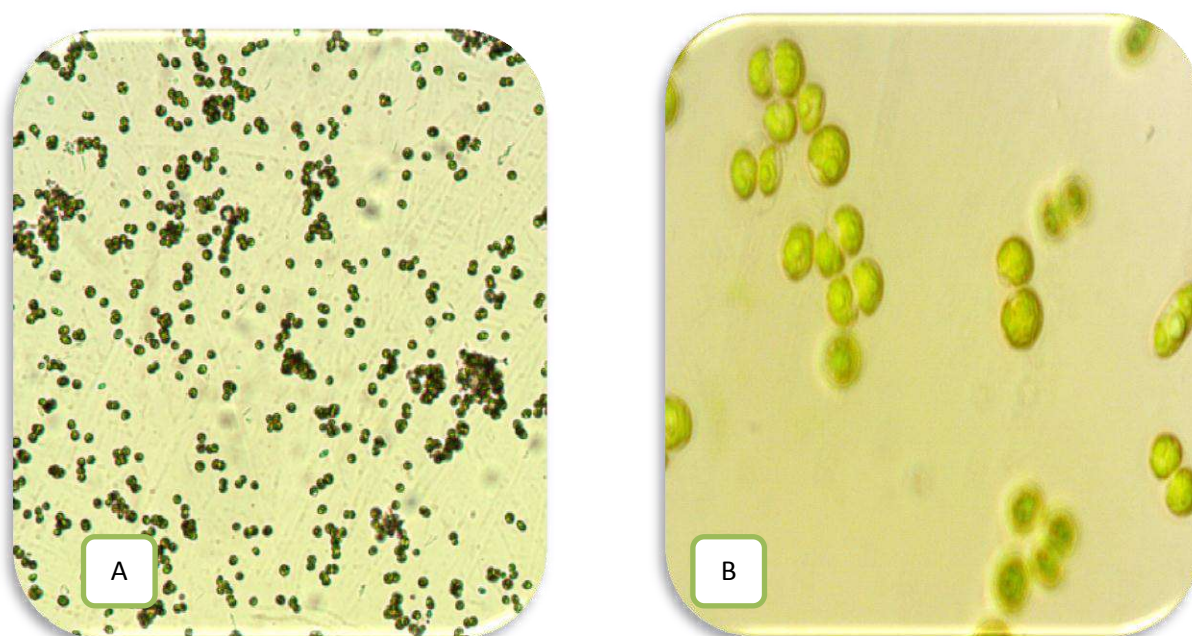


Figure 21: Observation de la souche microalgale par microscopie optique à Gx10 (Fig. A) et Gx100 (Fig. B).

IV.2.- Développement de la biomasse microalgale (axénique)

La croissance cellulaire des microalgues (*Chlorella vulgaris*) est suivie pendant 10 jours, le suivi de croissance se fait par mesure de la densité optique à 682 nm.

Les microalgues sont des microorganismes. Ces microorganismes ont une courbe de croissance divisée en trois phases principales : une phase de latence, une phase exponentielle et

une phase stationnaire. Selon les conditions de culture, une quatrième phase peut apparaître, la phase de déclin. Cette courbe est caractéristique de la croissance des microalgues en milieu non renouvelé, c'est-à-dire en milieu naturel ou en mode de culture batch (LUCCHETTI, 2014 ; VILLAY, 2013).

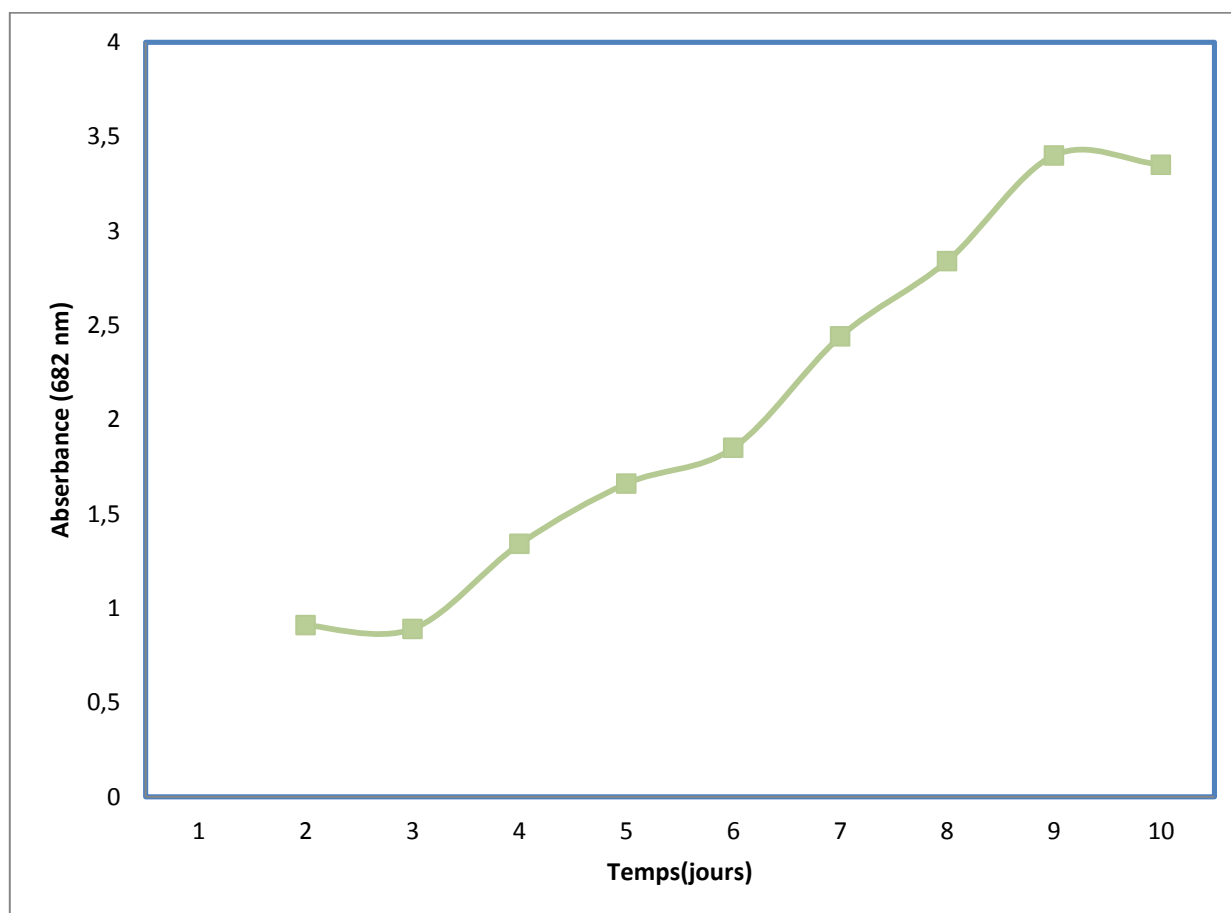


Figure 22: Courbe de développement de la biomasse

La courbe de croissance que nous avons obtenue après mesure des absorbances pour *Chlorella vulgaris* (Fig.22) montre que cette espèce présente une phase de latence de deux jours qui commence avec absorbance de $0,91 \pm 0,29$, les cellules s'adaptent aux nouvelles conditions de culture. Une phase exponentielle de six jours qui commence par absorbance égale à $0,89 \pm 0,07$; la population commence à croître via la reproduction végétative et une phase stationnaire d'environ deux jours avec absorbance de $3,35 \pm 0,31$, à la fin de mesure dont un des éléments essentiels semble manquant (lumière, azote, phosphore, carbone....) (AMOR, 2015).

IV.3.- Extraction des exopolysaccharides

Le rendement d'EPS précipité par 1/3 volumes d'éthanol 96% froide est calculé par rapport au poids de matière sèche ayant servi à l'extraction (MOURADI et al., 2006). Il apparaît que le rendement de l'extrait des polysaccharides hydrosolubles par rapport à la matière sèche est de 35,08%.

Tableau 8.- Rendement des EPS extraite

Poids de matière algal sèche	Poids de l'extrait	Rendement d'EPS
3420 mg	1200mg	35,08%

Le **tableau 8** représente le rendement d'EPS extraite d'espèce *Chlorella vulgaris*, 35,08% (350 mg/l) et les poids obtenu de l'extrait et la matière algale sèche en mg.

En comparant nos résultats avec d'autres études, la production d'EPS par *C. vulgaris* est inférieure à celle signalée par ZHANG et al., (2019) soit 364,3 mg/l et 944mg/ l d'EPS provenant de *Dunaliella salina* (MISHRA et al., 2009). YIM et al. (2005) signalent 134,7 mg/L d'EPS de *Gyrodinium impudicum*. Donc la capacité de sécréter des quantités d'exopolysaccharides dans le milieu de culture (milieu externe) est varié entre les espèces des microalgues, l'efficacité de la production des EPS varie d'une espèce à autre et même entre les même espèces selon les conditions de culture et l'état physiologique des cellules (ZHANG et al., 2019).

IV.4.- Etudes des polysaccharides microalgal

IV.4.1.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

Le **tableau 9** donne les teneurs en oses totaux, neutres, acides de l'extrait de polysaccharides hydrosolubles des microalgues qui s'élevaient à respectivement 54,26±0,51%, 15,59 ±0,08 % et 38,61±0,34 %.

Tableau 9.- Teneurs en oses totaux, neutres et acides.

Totaux	Neutres	Acides
54,26 ± 0,51 %	15,59 ± 0,08 %	38,61 ± 0,34%

Les oses totaux, sont les composants majeurs de l'extrait polysaccharidique, représentent $54,26 \pm 0,51\%$ de l'extrait polysaccharidique de *C. vulgaris*. La teneur d'acide uronique dans l'extrait est de $38,61 \pm 0,34\%$ est élevée par rapport à la teneur en oses neutres, soit $15,59 \pm 0,08\%$. En comparant nos résultats avec d'autres études pour la teneur des oses totaux, est inférieure à celle signalée par CHAN et al. (2018) soit (83,5%). SIDDHANTA et al.(2001) ont noté des tenures en acides uronique de 13,3% dans des polysaccharides extraits d'*Ulva fasciata*. Ce résultat est inférieur à ce que nous avons obtenu. De nombreuses études ont rapporté que la composition chimique en glucides, protéines et lipides des microalgues, étaient dépendants des conditions de croissance environnementales telles que la salinité, la teneur en azote, la photopériode et le stade de la récolte (HAFSA et al., 2017).

IV.4.1.1- Dosage des oses totaux

La coloration jaune-orange des tubes des échantillons indique la présence des exopolysaccharides dans les milieux dont les liaisons glycosidiques sont hydrolysées par l'acide sulfurique. Les unités osidiques sont déshydratés ce qui conduit à la formation des composés furfuriques qui sont condensées avec les composés phénoliques. Les absorbances des solutions sont déterminées à 483 nm. Les résultats sont exprimés en se référant à une courbe étalon de glucose mg/l (Fig.23)

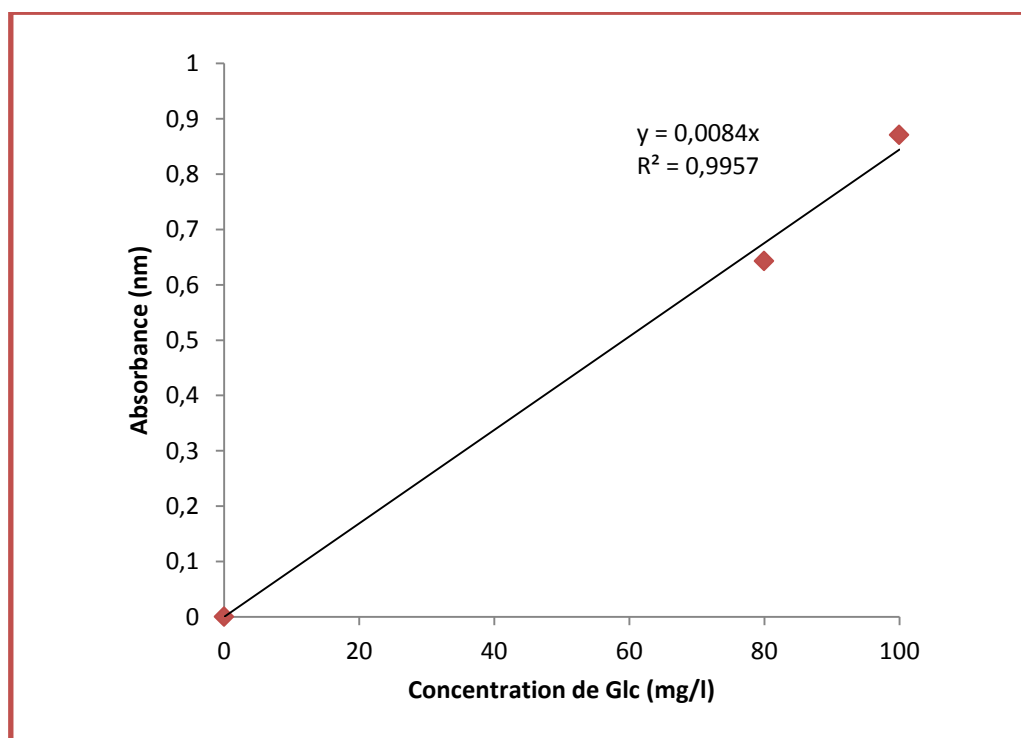


Figure 23: Courbe d'étalonnage des oses totaux.

IV.4.1.2- Dosage des oses neutres

L'apparition de couleur orange dans les tubes des échantillons indique la déshydratation des unités osidiques et la formation des composés furfuriques qui interagissent avec le résorcinol. Les absorbances sont déterminées à 480 nm et la teneur en oses neutres est exprimée en équivalent de glucose mg/l(Fig.24).

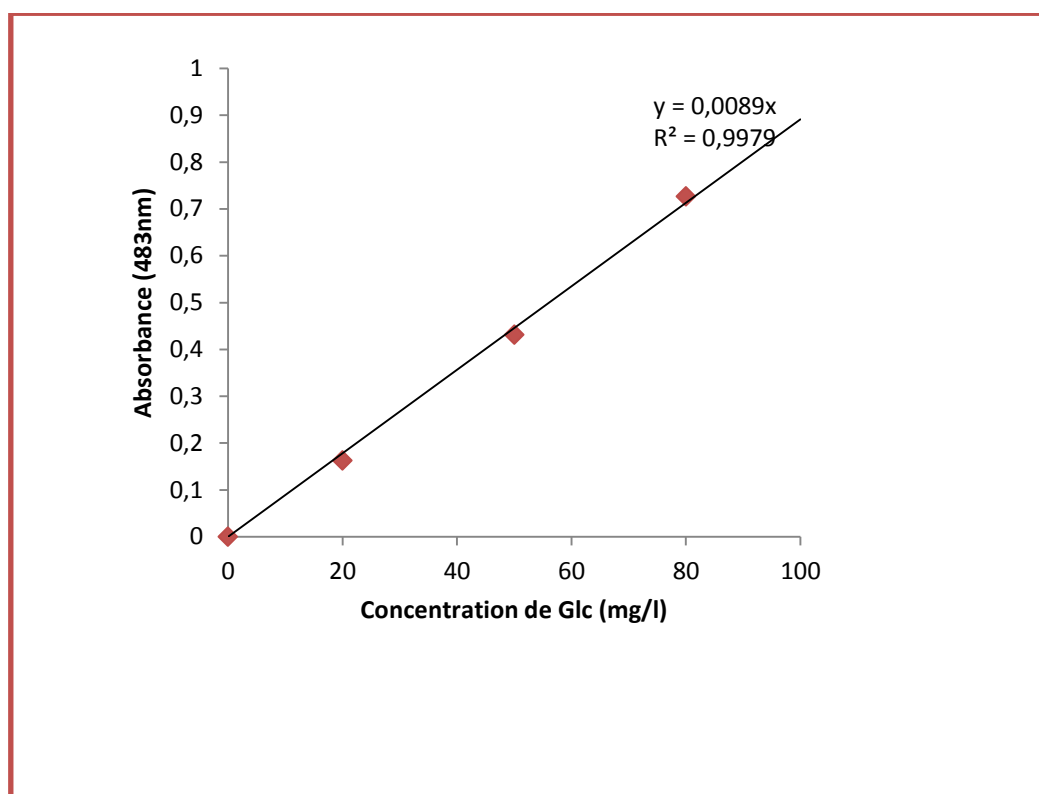


Figure 24: Courbe d'étalonnage des oses neutre.

IV.4.1.1- Dosage des oses acides

La présence de sucres acides dans les échantillons a été confirmée par l'apparition de la couleur rose après quelques minutes d'ajout de 20 μ l d' m-HDP qui a réagi avec les composés furfuriques. La concentration en oses acides est exprimée en équivalent d'acide glucuronique mg/l.

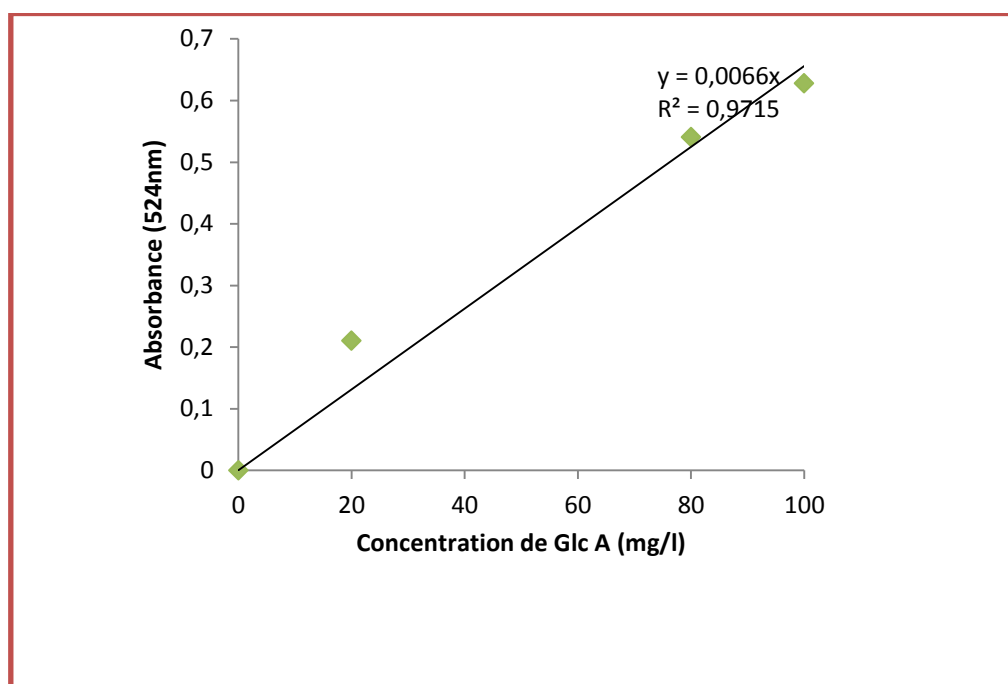


Figure 25: Courbe étalon des oses acides.

IV.5.- Activité antihyperglycémiant

La **figure 26** présente les pourcentages d'inhibition (%) de l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase des polysaccharides extraits d'algues vertes par rapport à l'acarbose.

L'extrait polysaccharidique a un pouvoir inhibiteur plus au moins faible vis-à-vis l' α -D-glucosidase, le pourcentage de polysaccharides inhibiteurs étant de $41,88 \pm 1,7\%$ pour une concentration maximale de 100 mg/ml et de $9,33 \pm 4,59\%$ pour une concentration minimale de 2,5 mg/ml. On note que pour l'acarbose, il a une forte force inhibitrice, où le pourcentage d'inhibition est de 100 % à la concentration de 6,456 mg/ml tandis qu'il semble que cette inhibition est négligeable à la concentration de 0,064 mg/ml. On remarque pour l'acarbose, le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement à l'augmentation des concentrations.

Les microalgues sont connues comme des inhibiteurs d' α -Dglucosidase. *C. pyrenoidosa* et *S. platensis* pourraient être utilisés comme ingrédients alimentaires hypoglycémiant naturels sans effets secondaires (WAN et al., 2019).

SUN et CHEN (2012) montre que la microalgue *Chlorella pyrenoidosa* a une activité inhibitrice sur l'enzyme α -Dglucosidase avec pourcentage de 22,15 - 68,28% à des concentrations de 0.2 - 1 mg/mL respectivement.

MAROUF et MECHRI (2020) ont signalé que l'extrait polysaccharidique de *Chlorella sp.* montre une inhibition de 41,33% pour une concentration maximale de 100 mg/ml et de 15,33% pour une concentration minimale de 2,5 mg/ml.

L'extrait exopolysaccharidique de *Chroococcus sp.* a un pourcentage d'inhibition de 41,88% pour une concentration maximale de 100 mg/ml et de 4,33% pour une concentration minimale de 2,5 mg/ml (BAKLI et ZIADI, 2020).

L'inhibition de l' α -glucosidase aide à ralentir l'absorption du glucose dans la circulation sanguine, agissant ainsi comme une stratégie efficace dans la gestion du diabète de type 2, la forme la plus courante de diabète SUN et CHEN (2012).

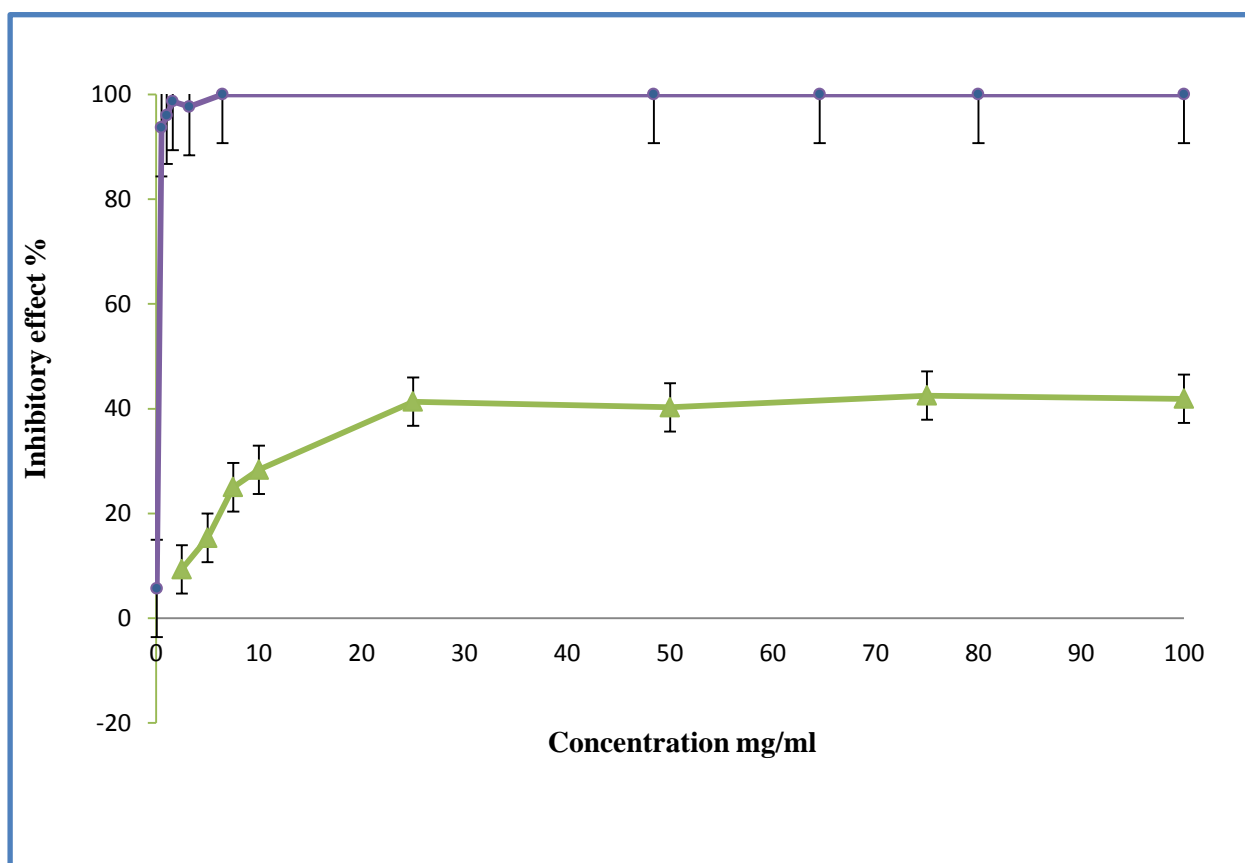


Figure 26: Pouvoir inhibiteur d'extrait polysaccharidique issu de *chlorella vulgaris* et de l'acarbose sur l' α -D-glucosidase, *in vi tro*.

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

L'utilisation de microalgues suscite un intérêt croissant grâce à leur pouvoir métabolique et car il existe de nombreuses applications qui convergent autour de ces cellules.

Les microalgues sont une source intéressante pour des polysaccharides bioactifs différents allant des applications industrielles aux nouvelles applications alimentaires. Ils possèdent de nombreux polysaccharides intéressants qui sont actuellement explorés pour leurs propriétés fonctionnelles dans l'alimentation et la biomédecine.

Chlorella vulgaris est une microalgue qui a attiré l'attention des chercheurs et des industriels grâce à sa richesse en nutriments (polysaccharides, les acides gras polyinsaturés...).

Les polysaccharides, extraits de la souche de *Chlorella vulgaris* isolée de sahara algérien, ont des propriétés biologiques innovantes.

Dans cette étude, nous avons consacré l'étude de la composition chimique des polysaccharides hydrosolubles issus de cette souche pure. Nous avons trouvé des hétéropolysaccharides acides et neutres dans des proportions variables.

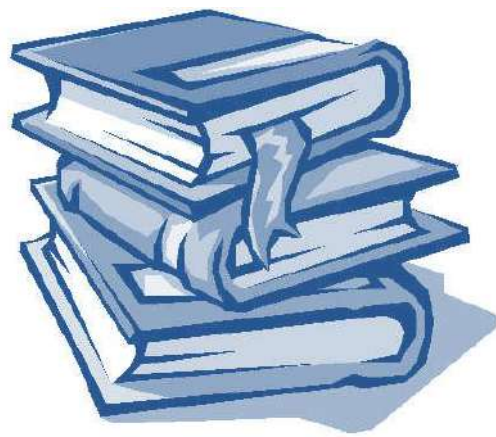
Le test de l'activité antihyperglycémique basé sur la mesure de pouvoir inhibiteur de l'enzyme α -D-glucosidase. Les polysaccharides de *Chlorella vulgaris* montrent un pouvoir inhibiteur modéré de l'enzyme α -D-glucosidase aux concentrations testées.

Notre étude a montré que les EPS de *Chlorella vulgaris* pourraient suivre des études approfondies en tant qu'antihyperglycémique potentielle et pourrait donc être considérée l'algue verte comme un aliment fonctionnel bénéfique pour les patients diabétiques.

Perspectives

Pour exploiter la potentiel des microalgues les laboratoires biologique /chimie doivent comprendre en détail le fonctionnement de ces organismes. Pour une meilleure évaluation des activités biologiques : anti diabétique des polysaccharides on propose de purifier l'extrait polysaccharidique, afin de préciser les parties responsables des effets remarquables.

Références bibliographiques



Références bibliographiques

-A-

ABDEL-RAOUF, N., AL-HOMAIDAN, A.A. AND IBRAHEEM, I.B.M., 2012. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 19(3), pp.257-275.

AHMADI, A., ZOROFCHIAN MOGHADAMTOUSI, S., ABUBAKAR, S. AND ZANDI, K., 2015. Antiviral potential of algae polysaccharides isolated from marine sources: a review. *BioMed research international*, 2015.

AI, L., WU, J., CHE, N., WU, Y. AND CUI, S.W., 2012. Extraction, partial characterization and bioactivity of polysaccharides from boat-fruited sterculia seeds. *International journal of biological macromolecules*, 51(5), pp.815-818.

AMOR, H.B., 2015. *Etude et optimisation de bioaccumulation de Mg²⁺ dans les microalgues «Chlorella vulgaris»* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay; Université de Sfax (Tunisie)).

ANDERSEN, R.A., 2005. *Algal culturing techniques*. Elsevier.

-B-

BECERRA-CELIS, G., 2009. *Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgue dans un photobioréacteur continu* (Doctoral dissertation, Ecole Centrale Paris).

BEIJERINCK, M.W., 1890. Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen. *Algen. Bot. Ztg.*, 48, pp.725-772.

BEMILLER, J.N. AND BEMILLER, J.N., 2007. Polysaccharides: occurrence, structures, and chemistry. *Carbohydrate chemistry for food scientists*, pp.93-117.

BENAOUN, F., 2017. *Caractérisation structurale et potentiel biologique des polysaccharides issus de Plantago notata Lagasca (Plantaginaceae) et Urginea noctiflora Batt. Trab (Liliaceae)* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne).

- BENCHAITA, H., 2014. *Etude de l'activité biologique des extraits polysaccharidiques issus l'Astragalus gombo récoltée au Sahara septentrional Est algérien* (Doctoral dissertation).
- BENEDETTI, M., VECCHI, V., BARERA, S. AND DALL'OSTO, L., 2018. Biomass from microalgae: the potential of domestication towards sustainable biofactories. *Microbial cell factories*, 17(1), pp.1-18.
- BELHAJ, D., FRIKHA, D., ATHMOUNI, K., JERBI, B., AHMED, M.B., BOUALLAGUI, Z., KALLEL, M., MAALEJ, S., ZHOU, J. AND AYADI, H., 2017. Box-Behnken design for extraction optimization of crude polysaccharides from Tunisian Phormidium versicolor cyanobacteria (NCC 466): partial characterization, in vitro antioxidant and antimicrobial activities. *International journal of biological macromolecules*, 105, pp.1501-1510.
- BESSION, A., 2013. *Etude multi-échelle de la récolte de Dunaliella salina-Développement d'un procédé d'autofloculation-flottation de microalgues* (Doctoral dissertation, Toulouse, INSA).
- BISHT, S., KANT, R., & KUMAR, V. (2013). α -D-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from Acacia tortilis gum exudate. *International journal of biological macromolecules*, 59, 214-220.
- BLUMENKRANTZ, N. AND ASBOE-HANSEN, G., 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical biochemistry*, 54(2), pp.484-489.
- BRENNAN, L., OWENDE, P., 2010. Biofuels from microalgae de review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 14 (2), 557 e577.
- BRUNETON, J., 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier.
- BWAPWA, J.K., ANANDRAJ, A. AND TROIS, C., 2018. Microalgae processing for jet fuel production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 12(4), pp.522-535.

-C-

CADORET, J.P., BARDOR, M., LEROUGE, P., CABIGLIERA, M., HENRIQUEZ, V. AND CARLIER, A., 2008. Les microalgues-Usines cellulaires productrices de molécules commerciales recombinantes. *Medecine/sciences*, 24(4), pp.375-382. CANTIN, 2010

CARDOZO, K.H.M., GUARATINI, T., BARROS, M.P., FALC~AO, V.R., TONON, A.P., LOPES, N.P., CAMPOS, S., TORRES, M.A., SOUZA, A.O., COLEPICOLO, P., PINTO, E., 2007. Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 146 (1e2), 60e78.

CHEN, Y., LIU, X., WU, L., TONG, A., ZHAO, L., LIU, B. AND ZHAO, C., 2018. Physicochemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*. *Carbohydrate polymers*, 185, pp.120-126.

CHAUDHARY, L., PRADHAN, P., SONI, N., SINGH, P., TIWARI, A., APRILE JUNE 2014. Algae As A Feedstock For Bioethanol Production: New Entrance In Biofuel World. *Int. J. Chemtech Res.* 6 (2), 1381-1389.

CHEN, R., MENG, F., LIU, Z., CHEN, R. AND ZHANG, M., 2010. Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalum caudatum* Ait. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), pp.845-851.

CHISTI, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25, 294e306

CHO, C.-W., Han, C.-J., Rhee, Y. K., Lee, Y.-C., Shin, K.-S., Shin, J.-S., et al. (2015). Cheonggukjang polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide- induced immunosuppression. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 519–525

CHOUANA, T., 2017. *Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'Astragalus gombo bunge* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne).

CRISTINA.S. F-N., VIEIRA, A.A., NAKAIE, C.R. AND NASCIMENTO, O.R., 2006. Effect of polysaccharide capsule of the microalgae *Staurastrum iversenii* var. *americanum* on

diffusion of charged and uncharged molecules, using EPR technique. *Brazilian Journal of Physics*, 36(1A), pp.75-82.

-D-

Dayananda, C., Sarada, R., Rani, M.U., Shamala, T.R. and Ravishankar, G.A., 2007. Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media. *Biomass and Bioenergy*, 31(1), pp.87-93.

DEJOYE, C., 2013. *Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

DELATTRE, C., PIERRE, G., LAROCHE, C. AND MICHAUD, P., 2016. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology advances*, 34(7), pp.1159-1179.

DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.T. AND SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), pp.350-356.

-F-

FILALI, R., 2012. *Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO2* (Doctoral dissertation, Supélec).

FRIGAARD, N.U., 2018. Sugar and sugar alcohol production in genetically modified cyanobacteria. In *Genetically Engineered Foods* (pp. 31-47). Academic Press.

-G-

GARACCI, M., 2018. *Evaluation de la réponse cellulaire et moléculaire d'une diatomée benthique d'eau douce à l'exposition à des nanoparticules carbonées* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).

GARON-LARDIERE, S., 2004. *Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge Asparagopsis armata (Bonnemaisoniales)* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale).

GILMOUR, D.J., 2019. Microalgae for biofuel production. *Advances in applied microbiology*, 109, pp.1-30.

GLOAGUEN V., RUIZ G., MORVAN H., MOURADI-GIVERNAUD A., MAES E., KRAUSZ P., STRECKER G. 2004. The extracellular polysaccharide of *Porphyridium* sp.: an NMR study of *lithiumresistant oligosaccharidic* fragments. *Carbohydrate Research*. 339: 97-103.

GRIVALSKÝ, T., RANGLOVÁ, K., DA CÂMARA MANOEL, J.A., LAKATOS, G.E., LHOTSKÝ, R. and MASOJÍDEK, J., 2019. Development of thin-layer cascades for microalgae cultivation: milestones. *Folia microbiologica*, 64(5), pp.603-614.

-H-

HAFSA, M.B., ISMAIL, M.B., GARRAB, M., ALY, R., GAGNON, J. and NAGHMOUCHI, K., 2017. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxic and anticholinesterase activities of water-soluble polysaccharides extracted from microalgae *Isochrysis galbana* and *Nannochloropsis oculata*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 82(5), pp.509-522.

HARUN, R., SINGH, M., FORDE, G.M., DANQUAH, M.K., 2010. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable Sustainable Energy Rev.*

HEIMANN, K. AND HUERLIMANN, R., 2015. Microalgal classification: major classes and genera of commercial microalgal species. In *Handbook of marine microalgae* (pp. 25-41). Academic Press.

HEINZE, T. and LIEBERT, T., 2012. Celluloses and polyoses/hemicelluloses.

HU, Q., 2004. *Environmental effects on cell composition vol 1*. Blackwell Science Ltd., Oxford.

-K-

KIM, SE-KWON., 2015. Hand book of marine microalgae: Biotechnology advances .Academic Press. pp (3-56).

KRAAN, S., 2012. Algal polysaccharides, novel applications and outlook. In: Chang, C.-F. (Ed.), Carbohydrates – Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology. Intech, Croatia, pp. 489–532.

KRZEMINSKA, I, PAWLIK-SKOWRONSKA, B., TRZCINSKA, M. AND TYS, J., 2014. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(4), pp.735-741.

-L-

LAURIENZO, P., 2018. Marine Polysaccharides and Their Importance for Human Health. *Blue Biotechnology: Production and Use of Marine Molecules*, 2, pp.485-528.

LI, N., LI, L., FANG, J. C., WONG, J. H., NG, T. B., JIANG, Y., ET AL., 2012. Isolation and identification of a novel polysaccharide-peptide complex with antioxidant, antiproliferative and hypoglycaemic activities from the abalone mushroom. *Bioscience Reports*, 32(3), 221–228.

LI, L., NI, R., SHAO, Y. AND MAO, S., 2014. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydrate polymers*, 103, pp.1-11.

LIU J., WILLFOR S., XU C., 2 0 1 5.- A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5, Vol. 5:3 1–6 1.

LUCCHETTI, A., 2014. Modélisation Et Conception D'un Système De Culture De Microalgues. Thèse doctorat. L'École Nationale Supérieure Des Mines De Paris. France.

LUTHULI, S., WU, S., CHENG, Y., ZHENG, X., WU, M. AND TONG, H., 2019. Therapeutic effects of fucoidan: a review on recent studies. *Marine drugs*, 17(9), p.487.

-M-

MAGER, D.M. AND THOMAS, A.D., 2011. Extracellular polysaccharides from cyanobacterial soil crusts: a review of their role in dryland soil processes. *Journal of Arid Environments*, 75(2), pp.91-97.

MISHRA *et al.*, 2009

MISURCOVA, L., ORSAVOVA, J., AMBROZOVA, J.V., RAMAWAT, K.G., 2015. Algal polysaccharides and health. In: Merillon, J.M. (Ed.), *Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology*. Springer International Publishing, Switzerland, pp. 110–144.

MONSIGNY, M., PETIT, C. AND ROCHE, A.C., 1988. Colorimetric determination of neutral sugars by a resorcinol sulfuric acid micromethod. *Analytical biochemistry*, 175(2), pp.525-530. MOREL *et al.*, 2012

MOSTAFAVI, F.S. AND ZAEIM, D., 2020. Agar-based edible films for food packaging applications-A review. *International journal of biological macromolecules*.

MOURADI A., CHIKHAOUI-KHAY M., AITAKKI S., AKALLAL R., HRRIMLE I., GIVERNAUD T., 2006.- Analyse structurale des fractions polysaccharidiques extraites de la paroi cellulaire d'*Hypneamusciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales). *Afrique SCIENCE*, Vol. 02 (2): 226-244.

MUTANDA, T., RAMESH, D., KARTHIKEYAN, S., KUMARI, S., ANANDRAJ, A., & BUX, F., 2011. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. *Bioresource technology*, 102(1), 57-70.

-N-

NGO, D.H. AND KIM, S.K., 2013. Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, pp.70-75.

NORTON, T.A., MELKONIAN, M., ANDERSEN, R.A., 1996. Algal biodiversity. *Phycologia* 35 (4), 308e326.

-P-

PERSON, J. (2010). Algues, Filières Du Futur. Livre Turquoise. Adebitech.

PASSOW, U., 2002. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Prog.Oceanogr.* 55, 287–333.

PEREIRA, S., ZILLE, A., MICHELETTI, E., MORADAS-FERREIRA, P., DE PHILIPPIS, R. AND TAMAGNINI, P., 2009. Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly. *FEMS microbiology reviews*, 33(5), pp.917-941.

PIGNOLET, O., JUBEAU, S., VACA-GARCIA, C. AND MICHAUD, P., 2013. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(8), pp.781-796.

PROUZET, P., 2015. Diversité et Fonctions De Systèmes Ecologiques Marins (Vol. 5). ISTE Editions. (Côte d'Ivoire) (Doctoral Dissertation).

-Q-

QIAN J-Y., BAI Y-Y., TANG J., CHEN W., 2015.- Antioxidation and a-glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. *LWT- Food Science and Technology*. Vol. 64:104-111.

-R-

RAPOSO, M.F.D.J., DE MORAIS, R.M.S.C. AND BERNARDO DE MORAIS, A.M.M., 2013. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine drugs*, 11(1), pp.233-252.

RAPOSO, M.P.F.J., Morais, R.M.S.C., Morais, A.M.M.B., 2015. Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine drugs*, 13(5), pp.2967-3028.

RICHMOND , A., HU, Q. , 2013. *Handbook of microalgal culture*. John Wiley & Sons, Limited.

RUIZ, G., 2005. Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges (Doctoral dissertation, Limoges).

-S-

SADI, M., 2012. Les Microalgues: Un Défi Prometteur Pour Des Biocarburants Propres. *Revue Des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa (2012)* : 195 – 202.

SÁNCHEZ, R.A.R., CANELÓN, D.J., COSENZA, V.A., FISSORE, E.N., GERSCHENSON, L.N., MATULEWICZ, M.C. AND CIANCIA, M., 2019. *Gracilariopsis hommersandii*, a red seaweed, source of agar and sulfated polysaccharides with unusual structures. *Carbohydrate polymers*, 213, pp.138-146.

SAHOO, D., & SECKBACH, J., 2015. *The algae world (Vol. 26)*. Netherlands: Springer.

SIALVE, B., 2013. *Couplage des cultures de microalgues avec la méthanisation: traitement et valorisation de la matière et de l'énergie dans le cadre de la bioraffinerie environnementale* (Doctoral dissertation, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon).

SIDDHANTA, A.K.; B.K. GOSWAMI ; K.H. RAMAVAT AND O.P. MODY., 2001. Water soluble polysaccharides of marine algal species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) of Indian waters. *Indian Journal of Marine Sciences.*, 30: 166-172.

SINGH, B., GULDHE, A., RAWAT, I., BUX, F., 2014. Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae. *Renewable Sustainable Energy Rev.*

SINGH, P., GUPTA, S. K., GULDHE, A., RAWAT, I., & BUX, F., 2015. Microalgae isolation and basic culturing techniques. In *Handbook of marine microalgae* (pp. 43-54). Academic Press.

SINGH, J., SAXENA, R. C., 2015. An Introduction to Microalgae: Diversity and Significance. In: *Handbook Of Marine Microalgae- Biotechnology Advances*. Academic Press. Pp.1-14.

SIALVE B, STEYER JP. Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques*. 2013; 26:25-39. SHEATH, R, G et WEHR, J, D., 2003. Introduction To Freshwater

SOANEN, N., 2017. *Caractérisation et modélisation de la culture de la microalgue Chlamydomonas reinhardtii et mise en place d'un photobioréacteur miniaturisé pour l'étude quantitative de la croissance de micro-organismes photosynthétiques* (Doctoral dissertation, Clermont Auvergne).

SPOLAORE PAULINE, et al. "Commercial applications of microalgae." *Journal of bioscience and bioengineering* 101.2 (2006).

STOLZ, P., OBERMAYER, B., 2005. Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmet. Toiletries* 120 (3), 99-106.

SUN, Z. and CHEN, F., 2012. Evaluation of the Green Alga *Chlorella pyrenoidosa* for Management of Diabetes. *Journal of Food & Drug Analysis*, 20.

SYDNEY, E.B., LARROCHE, C., NOVAK, A.C., NOUAILLE, R., SARMA, S.J., BRAR, S.K., LETTI, L.A.J., SOCCOL, V.T. AND SOCCOL, C.R., 2014. Economic process to produce biohydrogen and volatile fatty acids by a mixed culture using vinasse from sugarcane ethanol industry as nutrient source. *Bioresource technology*, 159, pp.380-386.

-T-

TORRES, M.D., FLOREZ-FERNANDEZ, N. AND DOMINGUEZ, H., 2019. Integral utilization of red seaweed for bioactive production. *Marine drugs*, 17(6), p.314.

TREDICI, M.R., 2004. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: Richmond, A. (Ed.), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. 178e214.

-V-

VENKATESAN, J., MANIVASAGAN, P. et KIM, S.K., 2015. Marine microalgae biotechnology: present trends and future advances. In *Handbook of Marine microalgae* (pp. 1-9). Academic Press.

VIAN, M.A., TANZI, C.D. et CHEMAT, F., 2013. Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes. *OCL*, 20(6), p.D607.

VINCENT.W.F., 2009. Cyanobacteria. Laval University, Quebec City, QC, Canada.

VILLAY, A., 2013. *Production en photobioréacteurs et caractérisation structurale d'un exopolysaccharide produit par une microalgue rouge, Rhodella violacea: application à l'obtention d'actifs antiparasitaires* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-FERRAND II).

VONSHAK, A., 1993. Microalgae: laboratory growth techniques and the biotechnology of biomass production. In *Photosynthesis and production in a Changing Environment* (pp. 337-355). Springer, Dordrecht.

-W-

WAN, X.Z., LI, T.T., ZHONG, R.T., CHEN, H.B., XIA, X., GAO, L.Y., GAO, X.X., LIU, B., ZHANG, H.Y. AND ZHAO, C., 2019. Anti-diabetic activity of PUFAs-rich extracts of *Chlorella pyrenoidosa* and *Spirulina platensis* in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 128, pp.233-239.

WANG, L., LI, Y., SOMMERFELD, M. AND HU, Q., 2013. A flexible culture process for production of the green microalga *Scenedesmus dimorphus* rich in protein, carbohydrate or lipid. *Bioresource Technology*, 129, pp.289-295.

WIESSNER, W., SCHNEP, E., STARR, R.C., 1995. *Algae, environment and human affairs*. Biopress Ltd., Bristol.

-X-

XIE, J. H., XIE, M. Y., NIE, S. P., SHEN, M. Y., WANG, Y. X., & LI, C., 2010. Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja. *Food Chemistry*, 119(4), 1626–1632.

XING, M., CAO, Q., WANG, Y., XIAO, H., ZHAO, J., ZHANG, Q., JI, A. AND SONG, S., 2020. Advances in research on the bioactivity of alginate oligosaccharides. *Marine drugs*, 18(3), p.144.

XU P., WU J., ZHANG Y., CHEN H., WANG Y., 2014.- Physicochemical characterization of puerh tea polysaccharides and their antioxidant and α -glucosidase inhibition. *Journal of Functional Foods*, Vol. 6: 545-554.

-Y-

YIM, J.H., SON, E., PYO, S. AND LEE, H.K., 2005. Novel sulfated polysaccharide derived from red-tide microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03 with immunostimulating activity in vivo. *Marine Biotechnology*, 7(4), pp.331-338.

YU, Y., SHEN, M., SONG, Q., & XIE, J., 2018. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate polymers*, 183, 91-101.

YUAN, Y., XU, X., JING, C., ZOU, P., ZHANG, C. AND LI, Y., 2018. Microwave assisted hydrothermal extraction of polysaccharides from *Ulva prolifera*: Functional properties and bioactivities. *Carbohydrate polymers*, 181, pp.902-910.

-Z-

ZHANG, S. , LI, X.Z., 2015. Inhibition of α -glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera* Abel. *Carbohydrate polymers*, 115, pp.38-43.

ZHANG, J., LIU, L. et CHEN, F., 2019. Production and characterization of exopolysaccharides from *Chlorella zofingiensis* and *Chlorella vulgaris* with anti-colorectal cancer activity. *International journal of biological macromolecules*, 134, pp.976-983.

ZHAUYNBAEVA K. S., RAKHIMOV D. A. et NIGMATULLAEV A. A., 2010.-

Polysaccharides from seeds of higher plants. Water soluble polysaccharides from plant seeds of family Apiaceae. *Chemistry of Natural Compounds*, vol. 46(5): 783-784.

ZHU, L., HILTUNEN, E., ANTILA, E., ZHONG, J., YUAN, Z., WANG, Z., 2014. Microalgal Biofuels: Flexible Bioenergies For Sustainable Development. *Renew Sust Energ Rev* 30:1035–1046.

Autres références

https://www.acstrasbourg.fr/fileadmin/pedagogie/biotechnologies/Enseignement_technologique/Ressources_pedagogiques/Concours_general_STL/CGbiotech_ecrit_2013_docts.pdf

KELVINSONG , 2012

([https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chloroplast_\(borderless_version\)-es.svg?uselang=frc](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chloroplast_(borderless_version)-es.svg?uselang=frc))

<http://nadquinn3.eklablog.com/la-spiruline-l-algue-100-bienfaits-a126393522>

Annexes

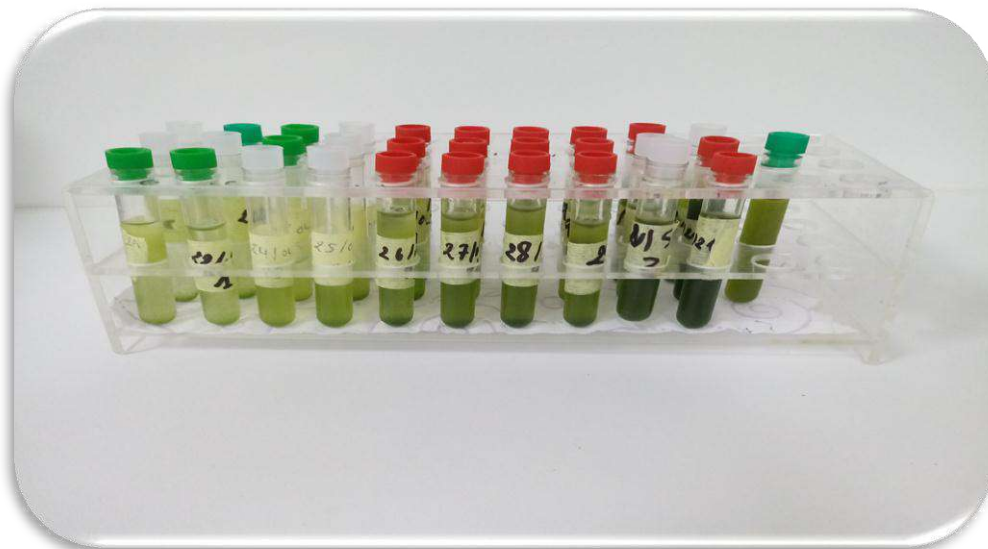
Annexes

Annexe 01 : Composition de milieu de culture

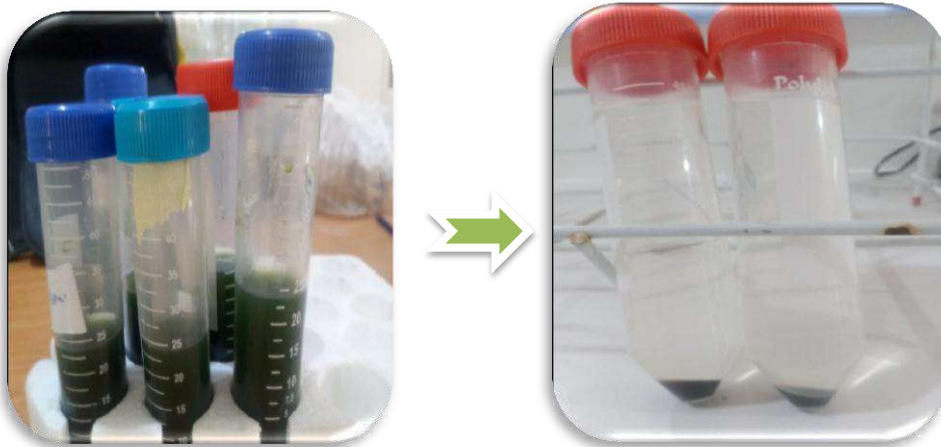
-Composition de milieu BBM (ANDERSON, 2005).

Elements	Solution de stokes g/l d H2O	Quantité utilisée	Concentration dans le milieu final
Macro nutriments			
NaNO3	25	10ml	$2,94.10^{-2}$
CaCl2 2 H2O	2,5	10ml	$1,70.10^{-4}$
MgSO4 7 H2O	7,50	10ml	$3,04.10^{-4}$
K2HPO4	7,5	10ml	$4,31.10^{-4}$
KH2PO4	17,5	10ml	$1,29.10^{-3}$
NaCl	2.50	10ml	$4,28.10^{-4}$
Solution Alcaline d'EDTA		1ml	
EDTA	50.00		$1,71.10^{-4}$
KOH	31.00		$5,53.10^{-4}$
Solution acidifiée de Fer			
FeSO4 7 H2O	4.98	1ml	$1,79.10^{-5}$
H2SO4		1ml	
Solution de Bore			
H3BO3	11.42		$1,85.10^{-4}$
Solution d'oligo-métaux			
ZnSO4 7 H2O	8.82	1ml	$3,07.10^{-5}$
MnCl2 4 H2O	1.44		$7,28.10^{-6}$
MoO3	0.71		$0,70.10^{-6}$
CuSO4 • 5 H2O	1,57		$6,29.10^{-6}$
Co(NO3)2 6H2O	0,49		$1.86.10^{-6}$

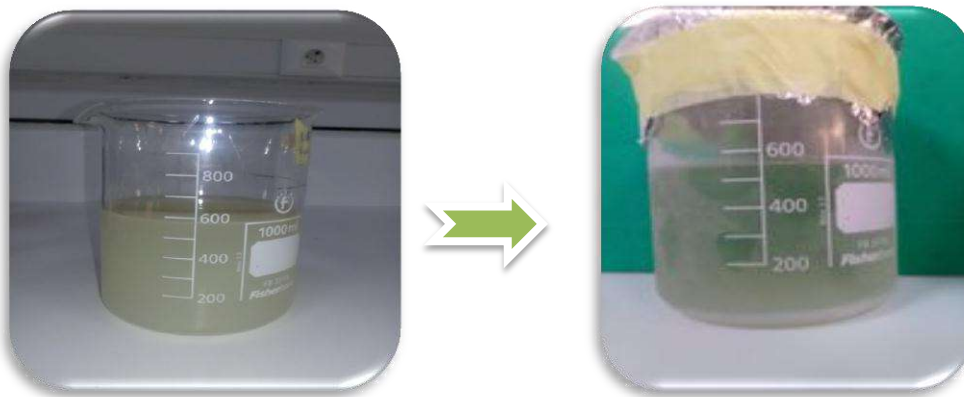
Annexe 02 : Développement de la biomasse microalgale



Annexe 03 : Extraction d'exopolysaccharides



La séparation de biomasse microalgale en surnageant et culot après la centrifugation

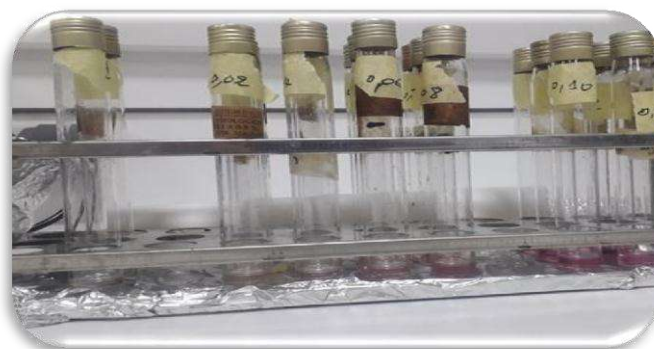


La précipitation des polysaccharides après le traitement par éthanol froid.

Annexe 04 : dosage des oses



Préparation de la gamme d'étalonnage de glucose



Préparation de la gamme d'étalonnage d'acide glucuronique

Annexe 05 : Différentes appareils utiliser



Etuve



Centrifugeuse



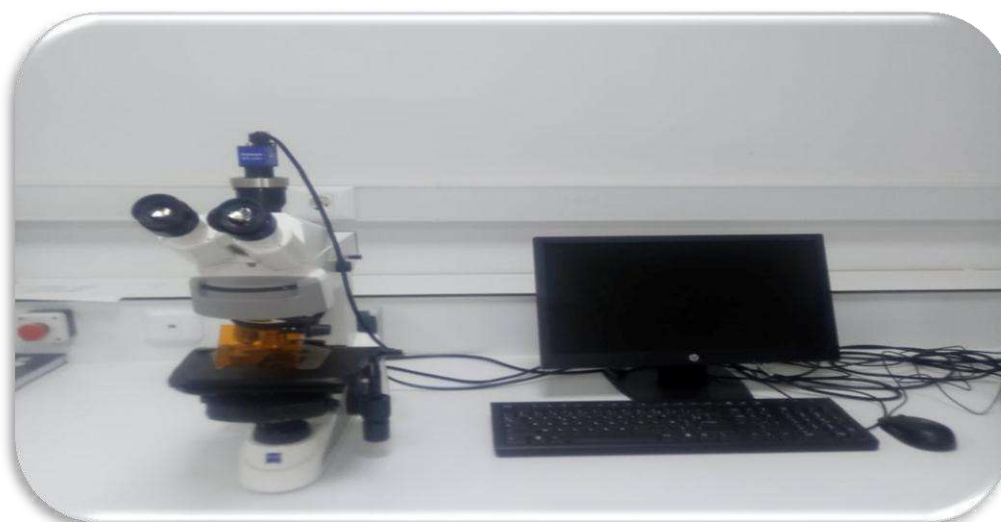
Balance de précision



Vortex



Rotavpor



Microscope optique équipé par ordinateur



Spectrophotomètre UV visible