

République algérienne démocratique et populaire
Université Kasdi Merbah –Ouargla- Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Qualité des produits et Sécurité alimentaire

Présenté par:

Marouf Safa et Mecheri intissar

Thème

**Isolement des souches microalgales
productrices des polysaccharides du Sahara
algérienne**

Soutenu publiquement Le: 29/09/2020

Devant le jury

Mr OULD ELHADJ Didi	Pr.	Président	Univ. Ouargla
Mr BOUAL Zakaria	Pr.	Encadreur	Univ. Ouargla
Mme BEN AOUN Fatima	MCB	Examinatrice	Univ. Ouargla
Mme GUEHAZ Karima	Assistante	Co-encadreur	Univ. Ouargla

Année universitaire: 2019 /2020

Remerciement

Il nous est agréable au moment de présenter ce travail d'exprimer nos reconnaissances aux personnes qui ont eu l'occasion de faciliter et de contribuer à sa réalisation.

*Les mots sont faibles pour exprimer toute notre gratitude au **DIEU** tout puissant, de nous avoir soutenu fortifié et assisté du début jusqu'à la fin de ce mémoire.*

*On remercie spécialement notre encadreur **Dr Zakaria BOUAL** 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, Nous remercions également **Mme GUEHAZ K.**, Dès le début, elle a été à la base de ce travail, nous a soutenus dans tous nos efforts et a contribué à l'investigation efficace de ce mémoire.*

Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre plus profond respect.

*Nous remercions **Mr OULD EL HADJ DIDI Professeur**, à l'Université KASDI MERBAH Ouargla, d'avoir accepté de présider les jurys et d'évaluer ce travail.*

*Nous remercions également **Mme BEN AOUN FATIMA**, M.A.B à l'Université KASDI MERBAH Ouargla, d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.*

Enfin, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas pu être cités ici.



Dédicace

*Mes parents, Ma mère **Acia Idrici** et Mon père **Hicham Marouf** Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.*

*À ma sœur **Siham***

*Mes frères **Zouhir, Mohamed el amine, Djamal elddine***

*À toute la famille **Marouf et Idrici***

À tous Mes amis et collègues

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer

Safa



Dédicace

*Je dédie ce travail modeste à:
Mes parents, Ma mère **Fatiha Chabbi** et Mon père **Mohamed Mecheri**,
pour leurs encouragements, leurs sacrifices et tout ce qu'ils ont fait pour
moi, c'est une dette que je ne pourrai jamais rembourser.*

*Mes sœurs **Douaa et Kaouther***

*Mes frères **Abd el monaime, Khair elddine, Lakhader, Baha elddine***

*À toute la famille **Mecheri et Chabbi***

Tous mes amis sans exception

Toutes les personnes qui m'ont aidé pendant mes études

Du fond du cœur, je dédie ce travail

Intissar

Designed by pngtree

Sommaire

Introduction générale	2
Chapitre I Généralités sur les microalgues	
I.1.- Historique	5
I.2.- Définition des microalgues	5
I.3.- Morphologie	6
I.3.1.- Types d'organisation cellulaire	6
I.3.1.1.- Unicellulaire flagellé, unicellulaire non flagellé (mobile, non mobile)	6
I.3.1.2.- Colonial flagellé, colonial non flagellé	6
I.3.1.3.- Filamenteux (non ramifié, ramifié)	7
I.3.2.- Organisation cellulaire	8
I.3.2.1.- Procaryote	8
I.3.2.2.- Eucaryote	8
I.3.3.- Caractéristiques de la colonie (ordonnée ou aléatoire)	8
I.3.4.- Adaptation morphologique	9
I.3.4.1.- Spores	9
I.3.4.2.- Hétérocystes	9
I.3.4.3.- Hormogonie	9
I.3.4.4.- Vacuoles à gaz	9
I.3.4.5.- Pili	9
I.4.- Classification des microalgues	10
I.4.1.- Critères de classification	10
I.4.2.- Classification morphologiques	10
I.5.- Habitat des microalgues	10
I.6.- Nutrition	11
I.7.- Reproduction	12
I.7.1.- Reproduction asexuée	12
I.7.2.- Reproduction sexuée	12
I.8.- Système de culture des microalgues	13
I.8.1.- Système ouvert ou raceway	13
I.8.2.- Systèmes fermés photo bio réacteurs PBR	13
I.9.- Paramètres influençant la culture des microalgues	14
I.10.- Application des microalgues	15

I.10.1.- Application alimentaire	15
I.10.2.- Application pharmaceutique	15
I.10.3. -Application cosmétique	16
I.10.4.- Application environnementale	16
I.10.4.1.- Traitements des eaux usées	16
I.10.4.2.- Consommation de CO ₂	17
I.10.5.- Application industriel	18
I.10.5.1.- La production de biocarburant	18
I.11.- Toxicité des microalgues	19
Chapitre II Généralités sur les polysaccharides	
II.1.- Définition des polysaccharides	21
II.2.- Classification des polysaccharides	21
II.2.1.- Classification selon le type des unités monosaccharidiques (composition chimique)	21
II.2.2.- Classification selon la structure	22
II.2.3.- Classification selon le rôle biologique	23
II.2.4.- Classification selon leur origine	23
II.3.- Les groupe substitutives et type des liaisons	23
II.4.- Détermination de la structure des polysaccharides	24
II.5.- Les différents types de polysaccharides des microalgues	26
II.5.1.- Les polysaccharides de réserve (intracellulaires)	26
II.5.2.- Les polysaccharides de structure (fibrillaires)	27
II.5.3.- Exopolysaccharides (polysaccharides extracellulaires)	27
II.6.- Caractéristiques morphologiques des polysaccharides extracellulaires des microalgues et des cyanobactéries	28
II.7.- Diversité des exopolysaccharides microalgues	29
II.8.- Biosynthèse et métabolisme des exopolysaccharides (EPS) des microalgues	32
II.9.- Activités biologique et applications des polysaccharides microalgal	33
II.9.1.- Application thérapeutique	34
II.9.1.1. Activité antivirale	34
II.9.1.2.- Activité anti-adhésive	34

II.9.1.3. Activité anti-inflammatoires et immunomodulatrices	34
II.9.1.4.- Activité anti-oxydantes	35
II.9.2. Application industrielles	35
II.10. Activité antidiabétique des polysaccharides des microalgues	36

Chapitre III Matériels et Méthodes

III.1.- Présentation du site d'étude	39
III.1.1.- Localisation géographique	39
III.2.- Echantillonnage	40
III.2.1.- Méthode de prélèvement	40
III.2.2.- Mesure des paramètres physicochimiques	41
III.3.- Les équipements pour l'isolement et la culture	41
III.4.- Préparation des milieux de culture	42
III.4.1.- Le choix des milieux	42
III.4.2.- Préparation des milieux de culture	42
III.4.3.- Le pH du milieu de culture	43
III.5.- Isolement et purification	44
III.5.1.- Isolement sur milieu solide	44
III.5.2.- Cultures d'enrichissement	45
III.5.3.- Technique de dilution	45
III.6.- Purification par repiquages successifs dans un milieu solide	47
III.7.- Identification morphologiques des microalgues	48
III.7.1.- Observation microscopique	48
III.8.- Culture en erlenmeyers	48
III.9.- Etudes des polysaccharides microalgues	48
III.9.1.- Sélection des espèces productrices de polysaccharides	48
III.9.1.1.- Coloration à l'encre de chine	48
III.9.1.1.1.- Principe de l'encre de chine	50
III.10.- Extraction des exopolysaccharides	50
III.11.- Activité antihyperglycémiant	51
III.11.1.- Principe d'activité antihyperglycémiant	51

III.11.2.-Préparation des solutions et réactifs	51
III.11.2.- Calcul de pourcentage d'inhibition	52

Chapitre IV Résultats et discussions

IV.1.- Mesure des paramètres physicochimiques	54
IV.1.1.- pH	54
IV.1.2.- Température	54
IV.1.3.- Salinité	55
IV.1.4.- Conductivité	55
IV.1.5.- Oxygène dissous	55
IV.2.- Enrichissement	56
IV.3.- Identification morphologique des microalgues	56
IV.3.1.- Identification morphologique des espèces isolées	57
IV.4.- Présentation de la souche isolée : <i>Chlorella</i> sp	57
IV.5.- Etudes des polysaccharides microalgal	58
IV.5.1.- Test de la production d'EPS par la coloration à l'encre de chine	58
IV.6.- Activités antidiabétique de l'extrait polysaccharidique du <i>Chlorella</i> sp	59
Conclusion	62

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau01	Classification des microalgues	10
Tableau02	Caractéristiques de la structure primaire des polysaccharides	25
Tableau03	Espèces marines de microalgues / cyanobactéries produisant du PS; et leurs principaux sucres neutres	30
Tableau04	Les pH des milieux utilisés	44
Tableau05	Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique	51
Tableau06	Test de l'activité antihyperglycémiant	52
Tableau07	Paramètres physicochimiques de l'eau de chott Aïn El Beïda	54
Tableau08	Résultats d'enrichissements	56

Liste des figures

Figure01	A microalgues unicellulaire ; B microalgues coloniale ; C microalgues filamenteuses	06
Figure02	Exemples des colonies des microalgues / cyanobactéries	07
Figure03	Exemple des cyanobactéries filamenteuses	08
Figure04	Systèmes utilisés dans la culture des microalgues	14
Figure05	Représentation du procédé de fixation du CO ₂ par les microalgues	17
Figure06	Les différents procédés et techniques de conversion énergétique de la biomasse d'algues en biocarburant	18
Figure07	Structures d' homopolysaccharides et hétéropolysaccharides	22
Figure08	Configuration anomérique (α et β)	24
Figure09	Structures de l'amylose et de l'amylopectine	26
Figure10	Disposition des fibrilles, des microfibrilles et de la cellulose dans les parois cellulaires	27
Figure11	Gaine de la cyanobactérie unicellulaire <i>Chroococcus sp.</i> observée au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine	29
Figure12	Photomicrographie montrant la capsule polysaccharidique de la Cyanobacterium <i>Cyanospira capsulata</i> observée au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine	29
Figure13	Mucilage dispersé (slime) produit par la cyanobactérie <i>Cyanothece PCC9224</i> observé au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine	29
Figure14	Photomicrographie montrant la tige de <i>Didymosphenia geminata</i>	29
Figure15	Voie proposée pour la synthèse d'EPS et compartimentation	33
Figure16	Situation géographique de la région d'Ouargla	39
Figure17	Photo original de site de prélèvement chott Aïn El-Beïda janvier 2020	40
Figure18	Méthode de prélèvement de l'eau de surface	41
Figure19	Photo de préparation des milieux de culture solides	43
Figure20	Schéma de l'isolement sur milieu solide	44
Figure21	Enrichissement des échantillons	45
Figure22	Préparation des dilutions	46
Figure23	Repiquage successive des colonies microalgales	47

Figure24	Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des microalgues	50
Figure25	Observation microscopique <i>Chlorella sp</i>	57
Figure26	Présence de mucilage espèce <i>Chlorella vulgaris</i>	58
Figure27	Pourcentages d'inhibition (%) de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose ou de l'extrait polysaccharidique.	59

Liste d'abréviation

µg	Microgramme
µl	Microlitre
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénine dinucléotide phosphate
A. Gal	Acide galacturonique
A. Glc	Acide glucuronique
AGPI	Acide gras polyinsaturé
Arab	Arabinose
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénine trinucleotide phosphate
BBM	Bold's Basal medium
BG-11	Blue green algae medium
C°	Degré Celsius
CH ₂	Méthylène
CO ₂	Gaz carbonique
CPs	Polysaccharides capsulaires
DID	Diabète insulino-dépendant
DNID	Diabète non insulino-dépendant
DO	Densité optique
ECPS	Polysaccharide extracellulaire
EPS	Exopolysaccharides
F/2	Milieu Guillard
Fru	Fructose
FT-IR	Fourier Transformed Infrared Spectroscopy
Fuc	Fucose
g	Gramme
Gal	Galactose
GC-MS	Chromatographie phase gazeuse/ Spectromètre de masse
Glc	Glucose
GT	Glycosyltransférases
GTS	Glycosyltransférases
h	Heure
H ₂	Hydrogène
HA	Acide hyaluronique
HCL	Acide hydrochlorique
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haut performance
IC ₅₀	Concentration inhibitrice médiane
L	Litre
LLOUs	Oligosaccharides liés à un lipide
LLPPS	Unités polysaccharidiques polymérisées liées par des lipides.
LPS	Lipopolysaccharides
Man	Mannose
mg	Milligramme
MNS	Monosaccharides
ml	Millilitre
mS-1/cm	Milli siemens par centimètre
NaOH	Hydroxyde de sodium
O ₂	Oxygène
O.D	Oxygène dissous

PBR	Photobioréacteur
PH	Potentiel d'hydrogène
P-NP	P-nitrophénol
P-NPG	P-nitrophényl alpha-Dglucopyranoside
Ppm	Partie par mille
PS	Polysaccharides
Rham	Rhamnose
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
Ros	Espèce réactive de l'oxygène
RPS	Polysaccharide libre
SM	Spectromètre de masse
SNC	Sucres nucléotides
sPS	Polysaccharide sulfatés
T°	Température
t/min	Tours par minutes
UV	Ultraviolet
VACV	Vaccina virus
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
Xyl	Xylose

Liste des Annexe

Annexe I : Composition de milieu de culture

Annexe II : Test de sélection

Annexe III : Différentes appareils utiliser

Introduction générale

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques. Elles ont une taille de l'ordre du micromètre et sont considérées comme des algues unicellulaires qui se développent en suspension principalement dans des solutions aqueuses (Wen et Johnson, 2009), ces organismes présentent une grande diversité morphologique et des caractéristiques biochimiques intéressantes qui leur confèrent un grand nombre d'applications à l'échelle scientifique et industrielle dans différents domaines à savoir : la production de molécules à hautes valeurs ajoutées exploitées dans le domaine pharmaceutique et cosmétique, l'alimentation humaine et animale et la production d'énergie renouvelable à travers la synthèse biologique d'hydrogène, de méthane et de carburant.

Du point de vue médicinal, le milieu marin est une source diversifiée de plusieurs composés biologiquement actifs qui sont relativement inexploités. L'exploitation des ressources marines peut fournir des pistes précieuses porteuses d'un potentiel économique et scientifique. Les ressources marines fournissent de nombreux composés, notamment des polysaccharides, polyphénols, des peptides, des pigments, et des stérols, des caroténoïdes...etc, Parmi ces macromolécules biologiques; les exopolysaccharides issu de microalgues ; qui sont des exopolymères, sécrétés par la cellule microalgale sous forme de masse muqueuse entourant des cellules ou un groupe de cellules. Ils sont utilisées dans plusieurs industries, particulièrement comme agent thérapeutique d'origine biologique sans effets secondaires, de plus, selon des études précédentes, les exopolysaccharides de microalgues présentent une efficacité remarquable contre le diabète sucré, par conséquent, la demande de recherche sur des polysaccharides à potentiel antidiabétiques est devenu nécessaire et importante (Nie et *al.*, 2018).

Le diabète sucré (DM) est un trouble métabolique et l'un des maladies chroniques les plus courantes affectant des millions de personnes dans le monde. Elle continue d'augmenter à la fois en nombre et en impact sur la qualité de vie, car l'évolution des modes de vie entraîne une réduction de l'activité et augmentation de l'obésité. L'hyperglycémie associée à une insuline défectueuse est le diabète de type 1, tandis que le diabète de type 2 est caractérisé par une augmentation du taux de sucre lié à des récepteurs défectueux. La survenue du diabète de type 2 est plus fréquente que le diabète de type 1 (Boettler et *al.*, 2010 ; Li et Zheng, 2004). De plus, les médicaments antidiabétiques disponibles dans le commerce tels que l'acarbose sont connus pour provoquer des effets secondaires indésirables, notamment une distension abdominale, des flatulences, un météorisme et une diarrhée en raison des puissants effets inhibiteurs de l'acarbose contre l'amylase (Puls et Keup, 1975; Bishoff, 1985). En tant que

tels, les efforts de recherche existants se concentrent sur la caractérisation d'extraits naturels ayant une forte activité d'inhibition de l' α -Dglucosidase pour la gestion et la prévention de l'hyperglycémie.

Les microalgues du Sahara algérien sont des espèces natives non exploitées, et elles peuvent contenir des polysaccharides biologiquement active, ces polysaccharides sont sécrétés sous l'effet des conditions physiques exceptionnelles du Sahara algérien (Haute T°, Salinité... etc).

Dans ce travail, on choisi le site de Chott Ain El Beida située dans la cuvette d'Ouargla, qui est classe l'une des zone humide d'importance internationale et se caractérise par leur température élevée et une salinité très élevée, ces conduction favorise la biodiversité des plusieurs espèce ; végétale, animale et microorganisme ce qui donne une possibilité de la présence des espèces microalgal productrice les exopolysaccharides.

Ce travail s'oriente sur l'étude des polysaccharides des quelques espèces microalgales isolée à partir du Chott Aïn El Beida de la région d'Ouargla. L'objectif recherché vise à extraire les exopolysaccharides et de tester leurs activités antidiabétiques.

Le travail est organisé en deux parties ;

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique sur les microalgues. Elle porte sur trois aspects, la première traite les microalgues, leurs classifications et nutrition, leur mode de reproduction, leurs applications, le second est un aperçu sur les polysaccharides, les différents types des polysaccharides des microalgues et leurs activités biologiques, et aussi l'étude de l'activité antidiabétique des quelques polysaccharides de certaines microalgues vertes.

La deuxième partie décrit les techniques d'isolement, de purification et d'identification des microalgues et le protocole d'extraction des polysaccharides pour l'évaluation de l'activité antidiabétique des EPS issus de quelques espèces microalgales. Ensuite, en expose l'ensemble des résultats obtenus, et ont été présentées leurs discussion et interprétations.

Enfin, une conclusion générale résume les différents résultats obtenus.

Chapitre I
Généralités sur les
microalgues

I.1.- Historique

Les microalgues ont été les premiers êtres vivants photosynthétiques apparus sur terre il y a environ 3 à 4 milliards d'années par les cyanobactéries (Gudin, 2013). Le nombre d'espèce de microalgues est estimé à 30 000 ou 40 000 sans compter les diatomées (Peltier, 2013). Les algues ont des durées de vie très variables, de quelques heures pour les algues microscopiques jusqu'à quelques années pour les grandes laminaires (Leclerc et Floch, 2010).

Beijerinck (1890, 1893) a été le premier à isoler la *Chlorella* et le *Scenedesmus* en cultures pure. Plus tard, il a également établi d'autres cultures monoalgale (axénique), y compris des cyanobactéries (Beijerinck, 1901) et des diatomées (Beijerinck, 1904), et il a reconnu que des cyanobactéries telles que *Anabaena* pourraient être cultivées dans un milieu auquel aucun composé azoté n'a été ajouté (Beijerinck, 1901).

La première installation industrielle de culture de *Chlorella sp* au Japon développée pour l'alimentation des proies utilisées pour l'alimentation des juvéniles de poissons d'élevage. D'autres applications de *Chlorella sp* et *Dunaliella sp* ont ensuite émergé: les industries agroalimentaires associées à la nutraceutique. L'Asie est le premier producteur de microalgues au monde, et représente à elle seule environ 50% de la production mondiale. Les principaux autres pays producteurs sont les USA, le Chili, l'Argentine, l'Australie. En Europe, l'Allemagne et les Pays-Bas sont les premiers producteurs avec environ 50 tonnes chaque année (Person, 2011).

I.2.- Définition des microalgues

Le terme « microalgues » (du grec, *mikrós*, qui signifie petit et du latin *alga* pour algue) sont généralement définies comme des organismes microscopiques photosynthétiques (Richmond, 2004), qui se développent généralement dans les milieux aquatiques et elles sont capables de convertir l'énergie lumineuse et le dioxyde de carbone (CO₂) en produits organiques (Tanzi, 2013). Les microalgues ne contiennent ni de tiges ni de racines ni feuilles comme les plantes supérieures (Kim et al., 2015).

Les microalgues sont soit des procaryotes représentées par algues bleu-vert (cyanobactéries), soit des eucaryotes représentées principalement par les algues vertes, rouges, diatomées...etc (Wijffels et al., 2013). Leur taille est de quelques micromètres. Elles sont une source prometteuse pour plusieurs composés bioactifs (Cardozo et al., 2007; Norton

et *al.*, 1996) tels que : les carbohydrates, les peptides, les acides gras, les caroténoïdes, les toxines et les (Kim et *al.*, 2015).

I.3.- Morphologie

I.3.1.- Types d'organisation cellulaire

Les microalgues peuvent avoir différents types d'organisations cellulaires : unicellulaire, coloniale et filamenteux.

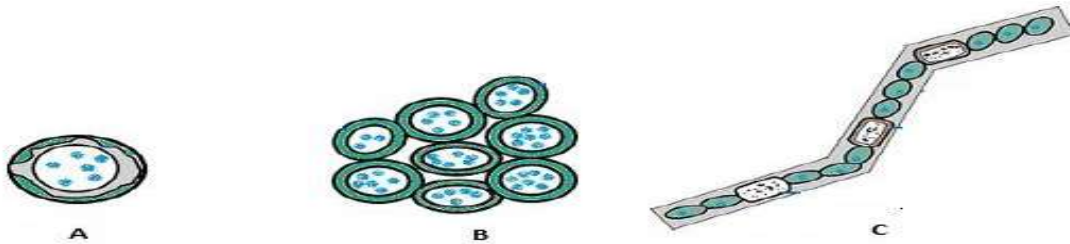


Figure01 : A microalgues unicellulaire ; B microalgues coloniale ; C microalgues filamenteuses (<https://biologyreader.com/cyanobacteria.html>)

I.3.1.1.- Unicellulaire flagellé, unicellulaire non flagellé (mobile, non mobile)

Les microalgues unicellulaires peuvent se définir comme les organismes vivants, qui ne possèdent qu'une seule cellule pour effectuer différents processus vitaux ou activités cellulaires dans le cytoplasme lui-même.

Les microalgues unicellulaires peuvent être mobiles ou non. La plupart des cyanobactéries unicellulaires sont non motrices, quelques espèces peuvent se déplacer par glissement ou par flottation. Dans le cas des formes mobiles, la motilité est essentiellement due à la présence de flagelles, mais, le mouvement par la sécrétion du mucilage est le plus inhabituel. Les gamètes et les zoospores sont généralement flagellés et motile. De plus, certaines diatomées pennées ont un type de motilité glissante (Richmond, 2004).

I.3.1.2.- Colonial flagellé, colonial non flagellé

Les cyanobactéries à organisation cellulaire coloniale ont des colonies non mobiles (par exemple *Gloeocapsa*). Dans les microalgues, les cellules flagellées mobiles peuvent s'agréger pour former colonies mobiles (par exemple *Volvox*) ou non mobiles (par exemple *Gloeocystis*). Les cellules non mobiles peuvent être organisées en formes coénobies avec un nombre fixe de cellules dans la colonie (par exemple *Scenedesmus*), ou sous des formes non coénobies avec un nombre variable de cellules (par exemple *Pediastrum*) (Richmond, 2004).

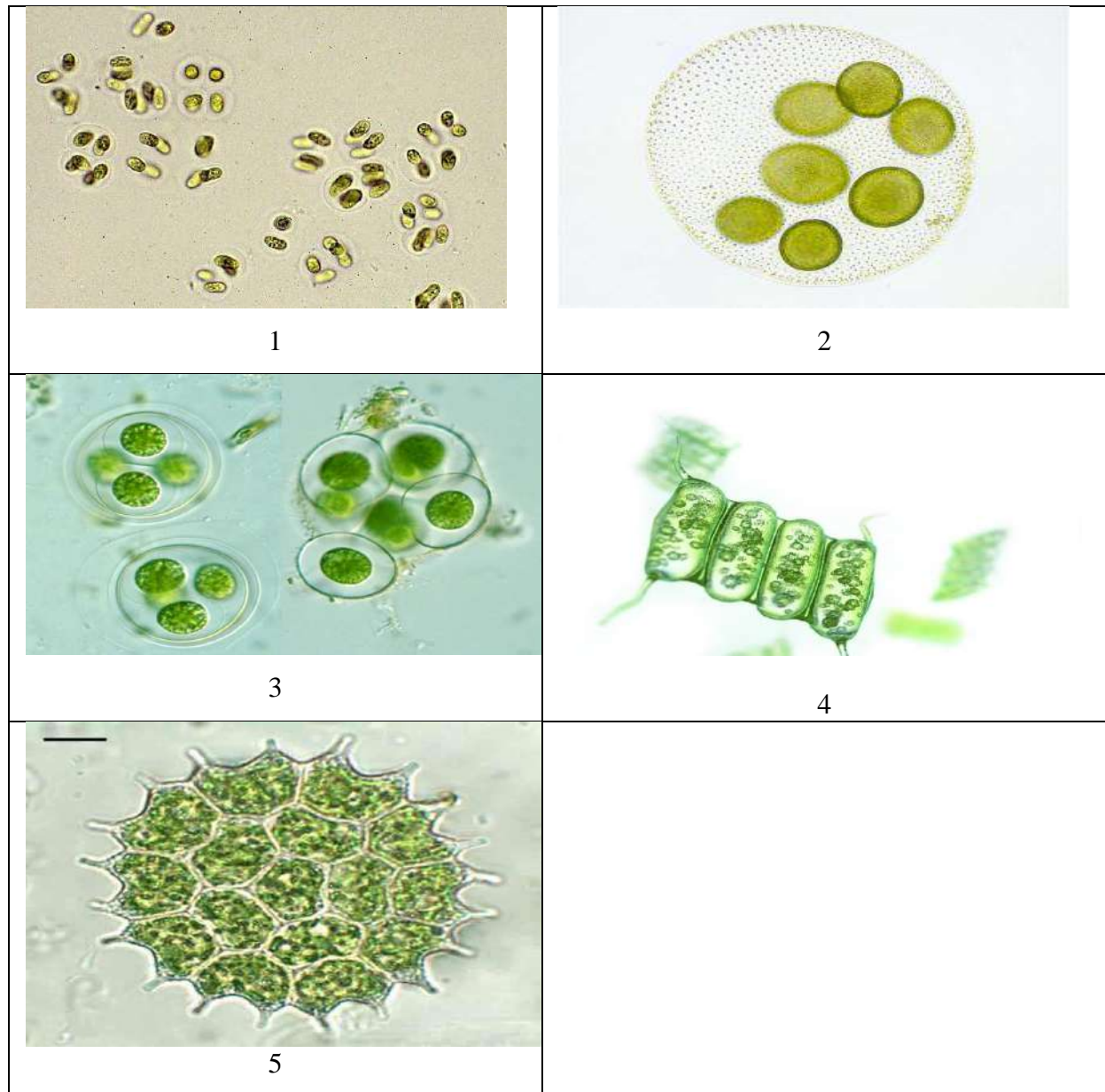


Figure 02 : Exemples des colonies des microalgues / cyanobactéries : 1 *Gloeocapsa*,
2 *volvox*, 3 *Gloeocystis gigas*, 4 *Scenedesmus Obliquus*, 5 *Pediastrum*
(<https://www.algotherrm.com>)

I.3.1.3.- Filamenteux (non ramifié, ramifié)

De nombreuses cyanobactéries filamenteuses peuvent avoir des glissements souvent accompagnés de rotation et de rampements (par exemple *Oscillatoria*), mais d'autres peuvent

être mobiles au stade de l'hormogonie (par exemple *Nostoc*). Les microalgues, avec une organisation de cellules filamenteuses non ramifiées ou ramifiées sont non mobiles, à l'exception des zoospores et des gamètes (Richmond, 2004).

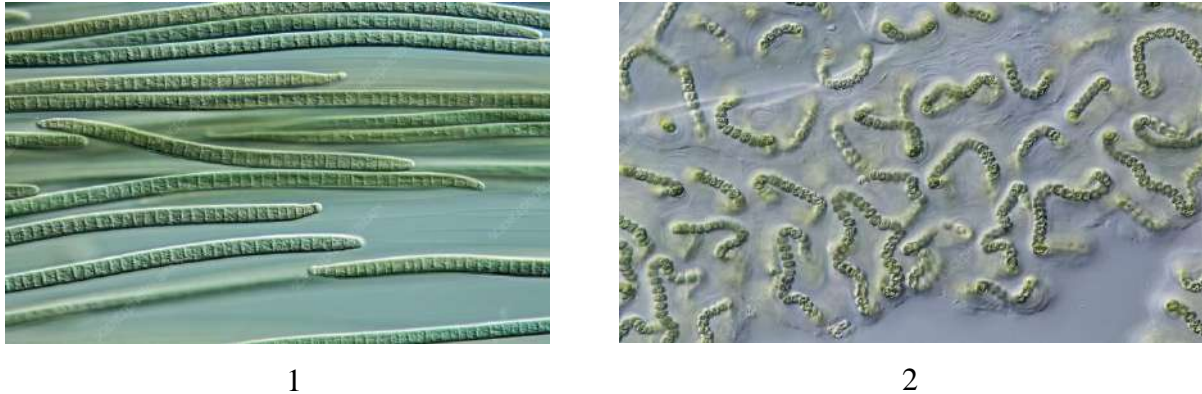


Figure03 : Exemple des cyanobactéries filamenteuses : 1 *Oscillatoria*, 2 *Nostoc*
(www.sciencephoto.com)

I.3.2.- Organisation cellulaire

I.3.2.1.- Procaryote

L'ADN des cyanobactéries procaryotes et des prochlorophytes n'est pas entouré d'une membrane nucléaire et n'ont pas d'organites liés à la membrane. Il n'est pas organisé dans les chromosomes, il se trouve libre dans le cytoplasme avec les chloroplastes (Richmond, 2004).

I.3.2.2.- Eucaryote

Les microalgues eucaryotes possèdent un véritable noyau entouré par une membrane, qui contient la majeure partie du génome répartie sur un ensemble de chromosomes, et un nucléole. Elles ont un cytoplasme divisé en compartiments et organites liés à la membrane consacrés à des fonctions spécifiques (Richmond, 2004).

I.3.3.- Caractéristiques de la colonie (ordonnée ou aléatoire)

Ils existent différentes formes d'organisation coloniale: plates, sphériques, cubiques, palmelloïde, dendroïde, flagellé et non flagellé. Les cellules sont détenues ensemble par un polysaccharide amorphe (par exemple *Microcystis*) ou enveloppe microfibrillaire (par exemple *Gloeothece*). À l'intérieur de la colonie, les cellules peuvent être ordonnées ou irrégulièrement disposé dans le mucilage (par exemple *Microcystis*). Les deux colonies avec

des cellules ordonnées (par exemple *Pediastrum*) et disposées de manière irrégulière (par exemple *Palmella*) se produisent dans les microalgues. De plus, les colonies non mobile (par exemple *Coelastrum*) et mobile formées de cellules flagellées, noyées dans un mucilage, sont courantes (par exemple *Gonium*) (Richmond, 2004).

I.3.4.- Adaptation morphologique

Cellules spécialisées comme akinetes, hétérocystes, hormogonie et les pili ou fimbriae se produisent dans de nombreuses cyanobactéries (Richmond, 2004).

I.3.4.1.- Spores

Akinetes, ou spores, sont des cellules à parois épaisses et le contenu granulaire, qui proviennent de cellules végétatives sous des conditions défavorables et germent lorsque des conditions favorables à la croissance sont restaurées (Richmond, 2004).

I.3.4.2.- Hétérocystes

Les hétérocystes sont des cellules uniques où la fixation de l'azote a lieu. Ils ont une paroi épaisse et un cytoplasme raréfié, caractérisés par deux nodules de cyanophycine (Richmond, 2004).

I.3.4.3.- Hormogonie

Les hormogonies sont de courts morceaux de trichome au stade de développement des cyanobactéries filamenteuses. Ils ont généralement une motilité de glissement, cellule de plus petite taille et / ou isolation au gaz (Richmond, 2004).

I.3.4.4.- Vacuoles à gaz

Les vacuoles à gaz sont des sous-cellules spécifiques en forme d'inclusions qui semblent très rétractiles au microscope optique. Elles sont composées de vésicules de gaz allongées avec des extrémités pointues, qui peuvent fonctionner dans la protection contre la lumière et / ou la flottabilité (Richmond, 2004).

I.3.4.5.- Pili

Les pili ou fimbriae sont des protéines non flagellaires appendices dépassant de la paroi cellulaire (Richmond, 2004)

I.4.- Classification des microalgues

I.4.1.- Critères de classification

De nombreux critères écologiques, physiologiques ou biochimiques interviennent dans la classification des algues comme les structures cellulaires, le mode de nutrition, l'habitat ou même la nature et la localisation des pigments et les glycanes de réserve. Malgré une extrême diversité et complexité structurale, tant d'un point de vue macroscopique que microscopique, les algues peuvent néanmoins être classées en une dizaine d'embranchements selon des critères basés sur leurs compositions pigmentaires, leurs polysaccharides de réserve ou des caractéristiques structurales (Ruiz, 2005).

I.4.2.- Classification morphologiques

Tableau 01 : Classification des microalgues selon Lee et *al.*, (2008)

Règne	Division	Embranchement/ Classe
Procaryote	Cyanophyta	Cyanophytes
	Prochlorophyta	
Eucaryote	Rhodophyta	Rhodophytes
	Chlorophyta	Micromonadophytes
		Charophytes
		Ulvophytes
		Chlorophytes
	Dinophyta	Dinophytes
	Chrysophyta	Chrysophytes
		Synurophytes
	Prymnesiophyta	Prymnesiophytes
	Bacillariophyta	Bacillariophytes
	Xanthophyta	Xanthophytes
	Eustigmatophyta	Eustigmatophytes
Rhaphidophyta	Rhaphidophytes	
Phaeophyta	Phaeophytes	

I.5.- Habitat des microalgues

Naturellement, les algues préfèrent les lieux les plus humides. En effet, la plupart des algues vivent dans les océans. D'autres algues qualifiées des lieux terrestres ou aériennes (Leclerc et Floc'h, 2010).

Elles colonisent les sols et une vaste gamme de supports comme les rochers, les arbres ou encore les édifices architecturaux. Certaines microalgues se développent dans les eaux de fonte de la glace ou de la neige et se trouvent également dans les déserts arides à semi-arides. L'atmosphère constitue également un environnement dans lequel une diversité notable de microalgues eucaryotes et de cyanobactéries est signalée (Sialve et Steyer, 2013).

I.6.- Nutrition

Les microalgues nécessitent l'accès à certains nutriments pour leurs activités métaboliques. La production de lipides, de protéines et de glucides est intrinsèquement liée aux conditions environnementales (lumière, température, et pH), la disponibilité des nutriments (Abdel-Raouf et *al.*, 2012; Munoz et Guieysse, 2006).

Le carbone, hydrogène, et l'oxygène sont des éléments non minéraux qui sont nécessaires à la croissance des microalgues. Le carbone est l'un des principaux éléments qui devrait être fourni aux cultures. En fonction de source de carbone, les microalgues peuvent être divisées en deux grands groupes : autotrophes et hétérotrophes. Les organismes autotrophes sont capables d'utiliser l'énergie solaire pour convertir des formes inorganiques de carbone (CO₂, carbonate ou bicarbonate) en produits organiques. En revanche, les organismes hétérotrophes utilisent l'énergie chimique des formes organiques de carbone (acétate ou glucose) pour leurs activités métaboliques.

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

L'azote est un élément important pour la production de protéines et acides nucléiques. Cet élément peut être disponible sous forme de nitrate, nitrite, ammoniac ou urée, et son absence favorise l'accumulation de lipides et la réduction de la teneur en protéines (Cakmak et *al.*, 2012; Li et *al.*, 2008; Rodolfi et *al.*, 2009).

Le phosphore est un élément important dans des molécules essentielles, comme l'adénosine triphosphate (ATP; le vecteur d'énergie dans les cellules), ADN et ARN, et un composant clé des phospholipides (un composant majeur de la teneur totale en lipides) (Sydney et *al.*, 2014).

Le soufre est une composante structurelle de certains acides aminés et vitamines (Barsanti et Gualtieri., 2006).

Le potassium est nécessaire pour plusieurs enzymes et participe à la synthèse des protéines ainsi que la régulation osmotique (Sydney et *al.*, 2014).

Le magnésium est un élément important, présent dans la chlorophylle, et un élément critique pour la réaction de photosynthèse.

Les micronutriments, tels que le fer, le manganèse, le cobalt, le zinc, le cuivre et le molybdène sont nécessaires en petites quantités.

Le fer en est un des oligo-éléments les plus importants pour la croissance des microalgues, en raison de leur pertinence dans les processus de photosynthèse et de respiration (Kim, 2015).

I.7.- Reproduction

I.7.1.- Reproduction asexuée

Elle se divise en 3 types :

- **Fragmentation** : Le thalle se sépare en deux parties qui redonneront chacune un nouveau thalle.
- **Sporulation** : Des spores peuvent être formées dans les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporanges.
- **Scission binaire** : division du noyau puis du cytoplasme.

La forme caractéristique du cœnobe de *Scenedesmus quadri cauda* provient de deux divisions successives par scission binaire. Les divisions suivantes provoquent la fragmentation de cette forme coloniale. Chez les cyanobactéries (*Oscillatoria*), des zones plus sensibles aux cassures sont présentes et favorisent ce mode de reproduction asexuée (Cavalla, 2000).

I.7.2.- Reproduction sexuée

Dans la reproduction sexuée, il y a fusion de gamètes mâle et femelle pour produire un zygote diploïde. Des œufs se forment dans les cellules réceptrices identiques aux cellules somatiques (*Spirogyra*) ou dans des cellules végétatives femelles peu modifiées nommées (oogones) (*Fucus*). Les spermatozoïdes sont produits dans des structures mâles spécialisées appelées anthéridies (Cavalla, 2000).

I.8.- Système de culture des microalgues

La culture des micro-algues à grande échelle peut être conduite selon deux modes, soit à l'aide de bassins ouverts à haut rendement, le raceway ou dans une enceinte transparente fermée utilisant la lumière naturelle ou artificielle, le photobioréacteur.

I.8.1.- Système ouvert ou raceway

Les systèmes de culture en milieu ouvert (bassins, « raceway ») sont des étangs de recirculation en boucle fermée avec une profondeur de quelques dizaines de centimètres. Ce sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial. Le mélange et la circulation du milieu sont possibles grâce à une roue à aube : le flux est guidé par la vitesse de rotation de cette roue. Un bullage permet un apport en CO₂ mais le transfert dans la phase liquide est souvent compliqué à cause de la faible profondeur des bassins. La température du milieu fluctue selon les cycles diurnes (nuit) et saisonniers. Toutefois peu d'espèces de micro-algues peuvent être cultivées en milieu ouvert de manière mono-spécifique. Pour toute culture selon ce mode, la principale contrainte est le risque de contamination par d'autres espèces de micro-algues ou d'autres micro-organismes comme des bactéries. C'est pourquoi, les cultures actuelles se faisant à ciel ouvert concernent des espèces de micro-algues poussant dans des milieux très sélectifs telles que *Dunaliella salina* qui se développe en milieu hypersalin. Les rendements atteints avec ces systèmes ne sont pas optimaux à cause de la difficulté à contrôler les facteurs environnementaux (hauteur de la lame d'eau, échauffement du bassin, phénomènes d'évaporation, etc...). La concentration en biomasse pour ce type de culture est généralement peu élevée car l'agitation du milieu est faible et des zones non agitées peuvent subsister (Tanzi, 2013).

I.8.2.- Systèmes fermés photo bio réacteurs PBR

Les photobioréacteurs (PBR) sont différents types de réservoirs ou de systèmes fermés dans lesquels les algues sont cultivées. Ce sont des systèmes particulièrement bien adaptés pour les microalgues sensibles aux contaminations, ils permettent également la culture des algues extrêmophiles. La culture des algues consiste donc en une ou plusieurs souches spécifiques optimisées pour produire le produit requis. Parce qu'il est capable de travailler en continu ou en discontinu, la productivité de la biomasse est meilleure en culture continue. L'eau, les nutriments essentiels et le dioxyde de carbone sont fournis de manière ordonnée

(Person et *al.*, 2010). Selon les objectifs de la production et les conditions climatiques, les systèmes fermés PBR peuvent être exposés à la lumière artificielle ou au soleil en extérieur.

Les systèmes fermés peuvent protéger la culture de la contamination et contrôler précisément les paramètres de croissance (lumière, température, nutriment, pH, volume de culture, niveau de biomasse, distribution de gaz) pour maximiser la productivité (Bonnetfond et *al.*, 2019).

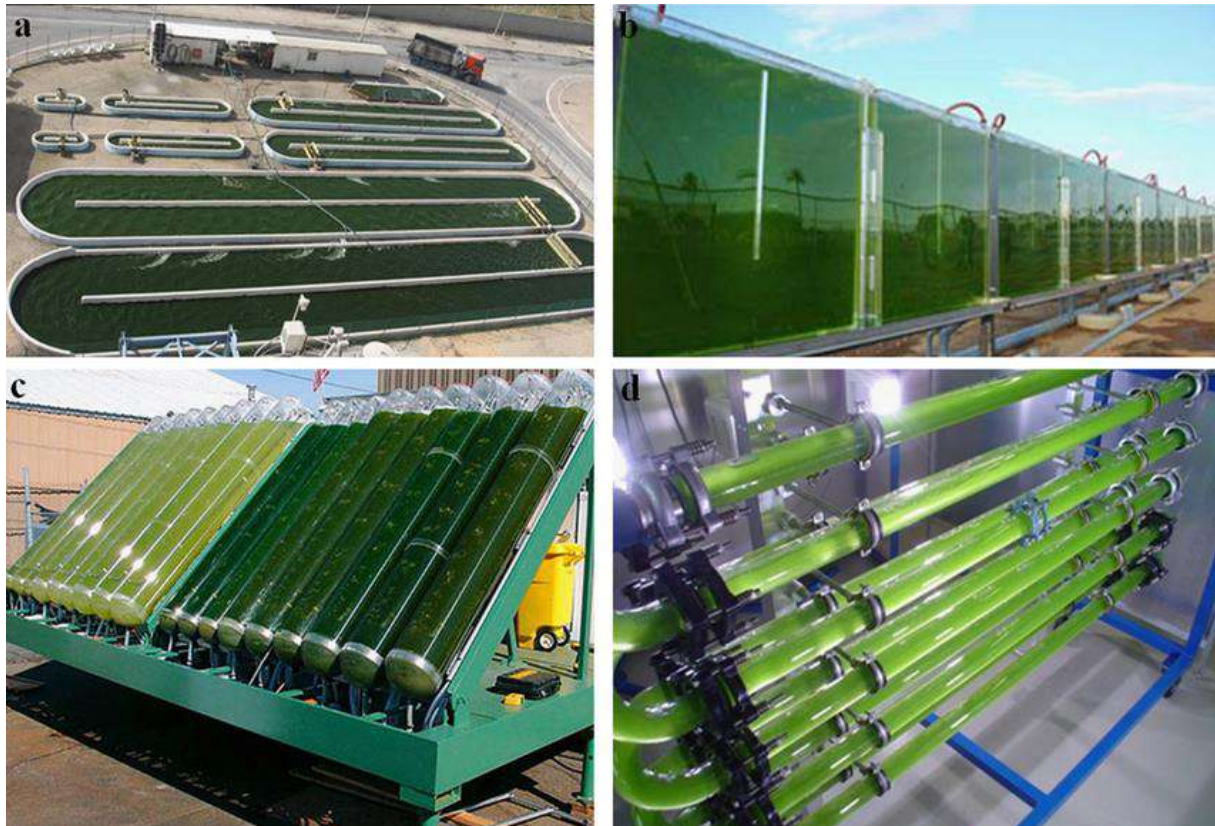


Figure 04 : Systèmes utilisés dans la culture des microalgues :(a) bassin de chemin de roulement « raceway », (b) PBR type plat, (c) PBR type tubulaire incliné, (d) PBR type horizontal/continu.AlgaPARC.com

I.9.- Paramètres influençant la culture des microalgues

Un certain nombre de paramètres de culture tels que intensité lumineuse, photopériode, température, la salinité, le pH, le mélange, etc influencent la croissance des microalgues. Ainsi, il devient impératif d'optimiser et de maintenir ces paramètres pendant la période de culture. Les paramètres généralisés et leurs plages optimales sont illustrés dans le tableau (Kim et *al.*, 2015).

I.10.- Application des microalgues

I.10.1.- Application alimentaire

Les gens qui vivent à la frontière des mers (principalement en Asie, en Europe) consomment des algues marines. Il peut être utilisé pour les soupes, les salades, la boulangerie, etc. Au Japon, *Porphyra tenera* (Rhodophyta), *Monostroma sp.* Et *Enteromorpha sp.* (Chlorophyta) sont gastronomiques de base ingrédients pour soupes, plats et poissons. *Gloeopeltis sp.* (Rhodophyta) *Alaria sp.* *Laminaires sp.* *Undaria sp.* (Phaeophyta) sont principalement utilisés pour la cuisine. En Amérique du Sud, les gens consomment *Ulva* et *Durvillea sp.* Tandis que dans la zone scandinave *Porphyra sp.* *Chondrus sp.* Et *Gelidium sp.* sont également populaires. En Afrique, les personnes commercialisent *Spirulina platensis* provenaient de Lac Tchad. Pour la consommation humaine, la culture des algues mentionnées est effectuée dans plusieurs pays (Tao, 2019).

I.10.2.- Application pharmaceutique

L'intérêt des microalgues réside essentiellement dans leur richesse en pigments et en acides gras polyinsaturés (AGPI).

- Les pigments : Les microalgues en renferment un grand nombre dont la chlorophylle qui est le principal pigment photosynthétique mais aussi les phycobiliprotéines et les caroténoïdes. Ce dernier fait déjà l'objet de nombreuses applications : le β -carotène de l'algue *Dunaliella* sert de précurseur de la vitamine A quant à la lutéine et la zéaxanthine, elles sont utilisées à des fins pharmaceutiques : elles joueraient un rôle protecteur de la rétine et retarderaient la survenue de la dégénérescence maculaire de la rétine. L'astaxanthine d'*Haematococcus* se retrouve en tant que complément alimentaire dans l'alimentation humaine. Ce pigment est un colorant fort et surtout un antioxydant puissant lui permettant de cibler plusieurs problèmes de santé dont une protection contre les rayons UV et une activité anti-inflammatoire (Faller, 2011).
- Le *Cyanobacterium Spirulina* est riche en acide linoléique et constitue une bonne source acide grasse polyinsaturée (AGPI) (Mahajan et Kamat, 1995). La production des AGPI réduiraient le risque de contamination chimique et un meilleur potentiel de purification. Ces AGPI sont utilisés pour réduire les maladies cardio-vasculaires, l'obésité, le transport des électrons et de l'oxygène, le métabolisme des cellules ou encore la capacité d'adaptation thermique.

I.10.3. -Application cosmétique

Les produits de soins de la peau dérivés de microalgues ont été développés sous forme d'anti-âges crèmes, soin rafraîchissant ou régénérant produits, émoullients et anti-irritants dans les épilateurs, crèmes solaires et produits de soins capillaires. Au début des années 2000, de nombreux entreprises cosmétiques en Europe et Les États-Unis ont commencé à lancer des cosmétiques utilisant des extractions de microalgues telles que la *spiruline*, *Chlorella*, *Anacystis*, *Halymenia*, *Nannochloropsis* et *Dunaliella* qui agissent sur la l'épiderme pour effacer les imperfections vasculaires en stimuler la synthèse de collagène et donc peut empêcher la formation de rides (Stolz et Obermayer, 2005). Acides aminé de type mycosporine de *Spiruline*, *Chlorella* et *Dunaliella* sont connus pour agir comme écrans solaires pour réduire les dommages induits par les ultraviolets (UV) (Kim, 2015).

I.10.4.- Application environnementale

I.10.4.1.- Traitements des eaux usées

Les microalgues sont utilisées dans le traitement des eaux usées pour éliminer les nutriments, les métaux et la matière organique (Tao, 2019).

Elles sont ainsi les principaux éléments biologiques de certains systèmes de traitement des eaux municipales et industrielles (essentiellement traitement tertiaire). Grâce à l'absorption de l'azote et du phosphore, elles contribuent à réduire le phénomène d'eutrophisation de certains milieux aquatiques. Une étude sur l'implication de *Chlorella vulgaris* dans l'absorption de l'azote et du phosphore des eaux usées (Aslan et Kapdan, 2006), a montré que l'oxygénation du milieu est facilitée par la production in situ de O₂ par la photosynthèse, permettant ainsi de réduire l'aération extérieure et limitant la fuite dans l'air des composés organiques volatils (Filali, 2012).

I.10.4.2.- Consommation de CO₂

Diverses études ont porté sur la capacité des microalgues à capter le CO₂ à partir de gaz de combustion (de Morais et Costa, 2007 ; Ho et al., 2010). Les microorganismes ont une vitesse de croissance plus élevée que celui des plantes terrestres (Borowitzka, 1999 ; Chisti, 2007 ; Li et al., 2008) et une activité photosynthétique 10 à 50 fois plus forte (Costa et al., 2000). Par ailleurs, ils sont capables de fixer biologiquement le CO₂ à partir de différentes sources : atmosphérique, gaz industriels et hydrogénocarbonates solubles.

Le processus de fixation du CO₂ par les microalgues repose sur la mise en culture de ces microorganismes photosynthétiques dans différents systèmes de production, soit ouverts (bassins naturels ou artificiels...) ou fermés (bioréacteurs), alimentés en continu par les éléments nutritifs essentiels à la croissance, par une source de CO₂, ainsi que par une source d'eau pouvant être saumâtre, saline ou hyper saline (figure05). La source de lumière peut être solaire ou artificielle dans le cas des réacteurs. Après l'étape de mise en culture, la seconde étape consiste à récolter la biomasse algale produite. Elle représente une des principales problématiques de ces nouvelles technologies en raison des coûts élevés des procédés appliqués, liés en partie à la faible concentration cellulaire des cultures (Filali, 2012).

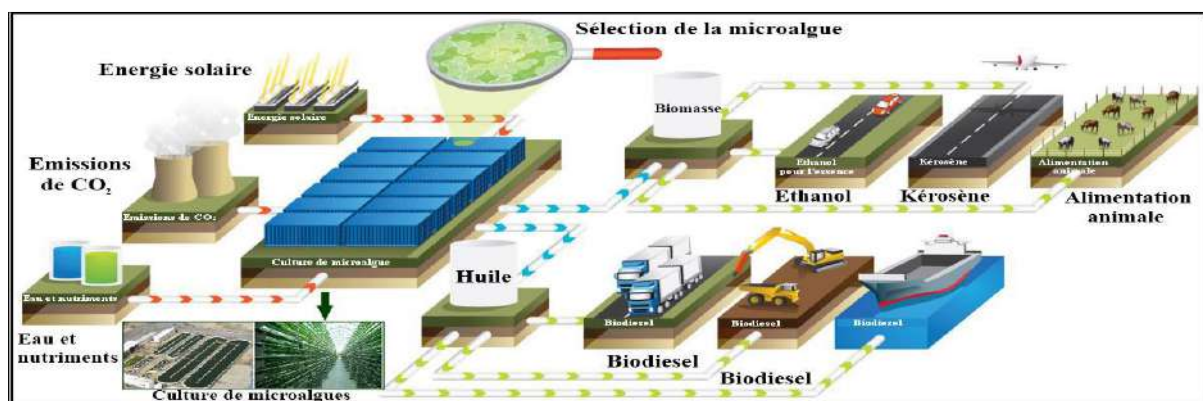


Figure 05 : Représentation du procédé de fixation du CO₂ par les microalgues.

<http://www.algaetec.com.au>

I.10.5.- Application industriel

I.10.5.1.- La production de biocarburant

Les algues ont été largement utilisées pour la production de carburant en raison de leur grande efficacité photosynthétique, de leur production élevée de biomasse et de leur croissance rapide (Miao et al., 2004). Les microalgues contiennent des protéines, des glucides et des lipides ; les lipides peuvent être transformés en biodiesel, les glucides en éthanol et en H₂, et les protéines en matière première de biofertilisant (Raja et al., 2013).

Le biocarburant est un produit de la biomasse qui peut être utilisé comme substitut aux carburants à base de pétrole (Drapcho et al., 2008). Le biocarburant issu de microalgues peut être traité par conversion thermochimique et biochimique. Le processus thermochimique peut être divisé en gazéification, liquéfaction, pyrolyse et combustion directe ; tandis que le processus biochimique peut être divisé en digestion anaérobie, fermentation et processus photobiologique. En utilisant le processus de gazéification, la biomasse produit du CH₂, du

H₂, du CO₂ et de l'ammoniac. Le combustible liquide peut être produit par le processus de liquéfaction. La pyrolyse est la conversion de la biomasse en biocarburant, charbon de bois et fraction gazeuse. Le processus de digestion anaérobie peut produire du méthane et de l'H₂, tandis que le processus de fermentation peut produire de l'éthanol et le processus photobiologique peut produire de l'hydrogène. La figure 06 montre le processus de conversion des microalgues (Kim et al., 2015).

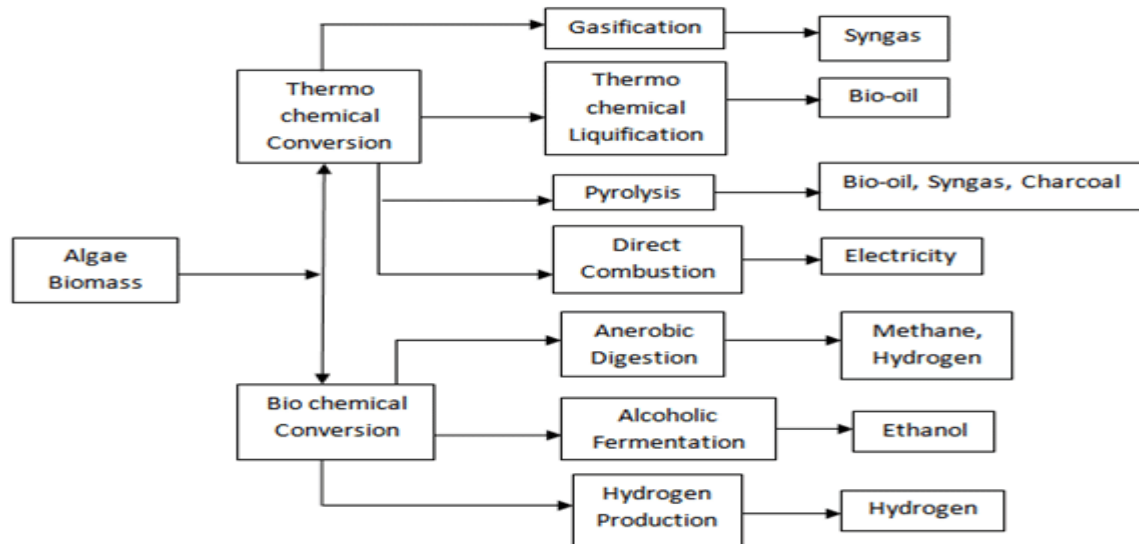


Figure06 : Les différents procédés et techniques de conversion énergétique de la biomasse d'algues en biocarburant (Tsukahara et Sawayama, 2005)

I.11.- Toxicité des microalgues

Premièrement, très peu d'algues sont toxiques pour l'homme. Ce sont surtout des algues microscopiques qui peuvent être dangereuses. Parmi le phytoplancton, à peine 2% peuvent produire des substances délétères. Elles produisent naturellement des molécules capables de perturber l'action d'autres organismes et sont ajustent la synthèse de ces molécules en fonction de leurs besoins (Leclerc et Floc'h, 2010).

Les toxines peuvent être libérées dans l'eau (exotoxines) ou restent dans les cellules (endotoxines). Les exotoxines agissent directement sur les animaux et les végétaux. En revanche, Les endotoxines n'expriment leur toxicité qu'après l'ingestion d'algues. Elles s'accumulent dans la chaîne alimentaire et parviennent jusqu'à l'homme via les produits marins consommés. Elles posent à la fin un risque pour la santé et un fléau pour l'économie aquacole. Parfois, les endotoxines peuvent être directement libérées dans l'eau lorsque les

algues se brisent dans les vagues ou lors du passage d'un banc de poissons (Leclerc et Floc'h, 2010).

Chapitre II
Généralités sur les
polysaccharides

II.1.- Définition des polysaccharides

Les polysaccharides sont des glucides relativement complexes, on les trouve couramment dans les organismes vivants et ils révèlent diverses fonctions (Dumitriu, 2004). Les polysaccharides sont des macromolécules constituées de nombreux monosaccharides réunis par des liaisons glycosidiques. Les unités monosaccharidiques sont l'aldose (structure pyranose à six membres) ou le cétose (structure furanose à cinq membres), ces sucres présentent dans les polysaccharides un nombre supérieur de 20 à 60 000 liées par des liaisons O-glycosidiques avec une stéréochimie définie. Les polysaccharides peuvent être linéaires, ou ramifiés avec quelques courts branches, Branches longues et lourdes avec une structure arbustive. Selon sa composition chimique, un polysaccharide peut être un homopolysaccharide ou un hétéropolysaccharide (Maji, 2019).

Les polysaccharides sont également appelés glycanes, dont la formule générale est « $C_x(H_2O)_y$ ». Le constituant le plus commun des polysaccharides est le D-glucose, mais, on trouve aussi le D-fructose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose et le D-xylose. Certains dérivés peuvent être des sucres aminés (D-glucosamine et D-galactosamine), ainsi que leurs dérivés (Acide N-acétylneuraminique et acide N-acétylmuramique) et les acides de sucres simples (acides uroniques) (Venugopal, 2011).

II.2.- Classification des polysaccharides

La classification des polysaccharides est toujours restée un grand défi pour la communauté scientifique. Les polysaccharides sont classés par de nombreuses manières, Selon leur composition chimique (unités monosaccharidiques), leur structure, leur fonction biologique, leur charge ionique ou leur origine etc (Maiti et Jana, 2019).

II.2.1.- Classification selon le type des unités monosaccharidiques (composition chimique)

Le terme générique «glycose» signifie un monosaccharide et «glycan» signifie un polysaccharide. Sur la base du type des monosaccharides, un polysaccharide peut être divisé en deux parties: les homopolysaccharides (homoglycanes), qui consistent en un seul type de monosaccharide comme la cellulose ou le glycogène, et les hétéropolysaccharides (hétéroglycanes), qui peuvent avoir plus de deux ou plusieurs types différents de monosaccharides liés à une variété de liaisons glycosidiques, par exemple, l'héparine. Ainsi, sur la base de liaisons, un polysaccharide peut être classé comme homolinkages (homo-

liaisons) si toutes les liaisons glycosidiques sont de configuration α ou β et comme (hétéro-liaisons) si les liaisons mélangent à la fois les configurations α et β (Lardiere, 2004).

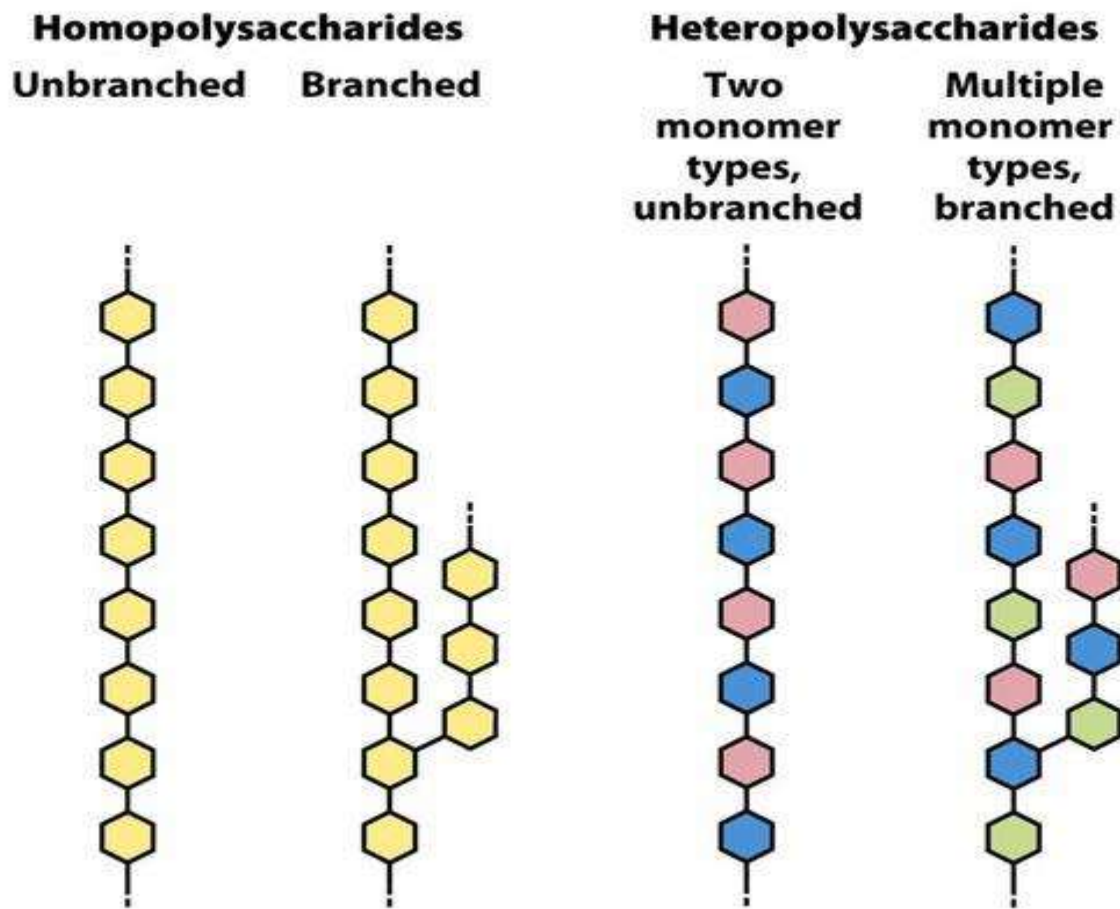


Figure07 : structures d' homopolysaccharides et hétéropolysaccharides

II.2.2.- Classification selon la structure

Les polysaccharides peuvent être linéaires ou ramifiés. Les polysaccharides linéaires sont les plus abondants dans la nature et se trouvent principalement dans les plantes supérieures, les algues marines et les mauvaises herbes. Les polysaccharides ramifiés ont également été trouvés dans la nature. Elles sont très diverses et existent sous de nombreuses formes : longues branches, des structures branche sur branche qui forme une grappe ou structure en forme d'arbuste (Maji, 2019).

Les polysaccharides diffèrent les uns des autres dans leurs unités monosaccharidiques répétées, la longueur de leurs chaînes et le degré de ramification. A l'exception des polysaccharides cycliques connus sous le nom de cyclodextrines, leurs chaînes ont une

extrémité non réductrice et une extrémité réductrice (Par exemples ; des galactomannanes ou des glucuronoarabinoxylanes) (Zong et *al.*, 2012).

II.2.3.- Classification selon le rôle biologique

Les polysaccharides jouent deux rôles principaux dans les organismes vivants:

- Les polysaccharides de structure forment les parois des cellules végétales. Elles jouent un rôle important dans l'alimentation humaine : ce sont les fibres alimentaires (cellulose et pectine ;
- Les polysaccharides de réserve qui sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon dans les plantes et de glycogène chez les mammifères (Yves, 2008).

II.2.4.- Classification selon leur origine

Selon Maiti et Jana, (2019) Les polysaccharides peuvent être classés en fonction de leur origine ;

Polysaccharides d'origine végétale: amidon, cellulose et gommés d'exsudat comme l'arabinogalactane et gomme de caroube ;

Polysaccharides d'origines algales: alginates, galactanes (les agars), carraghénane ;

Polysaccharides d'origine animale: chitine et chitosane, glycosaminoglycanes et hyaluronique acide (HA) ;

Polysaccharides d'origine microbienne ; Les microorganismes et les macromycètes constituent une source importante de polysaccharides dans le milieu naturel.

Les polysaccharides des bactéries: dextrane, gomme gellane

Les polysaccharides des champignons : pullulane et gomme xanthane.

II.3.- Les groupe substitutives et type des liaisons

Les polysaccharides complexes peuvent contenir des substituants (le plus souvent des esters) et des groupes chimiques fonctionnels (par exemple des groupes carboxyle dans la pectine ou des groupes amine dans la chitine). De nombreux polysaccharides naturels sont également liés à des lipides ou à des fragments protéiques et sont fréquemment substitués par

divers groupes chimiques (par exemple, esters d'acétyl, sulfonyl, phosphyl) (Boeriu et *al.*, 2017).

Concernant, Les liaisons glycosidiques qui unissent les monosaccharides peuvent avoir des configurations α ou β . Le descripteur anomérique (α et β) du D-glucose en configuration à chaîne ouverte, le groupe hydroxyle libre (OH-) du carbone C5- attaque intramoléculairement le groupe aldéhyde du carbone C1 pour former un mélange de deux types d'isomères: α - et β -anomères avec un nouveau centre stéréogène au carbone C1, appelé carbone anomérique.

α -anomère signifie que le groupe hydroxyle au nouveau centre stéréogène C1-carbone se pointe dans la direction opposée au groupe CH₂OH au C5-carbone ; alors que le groupe hydroxyle au C1-carbone se pointe dans la même direction que le groupe CH₂OH au C5-carbone désigné comme **β - anomère** (figure08) (Maji, 2019).

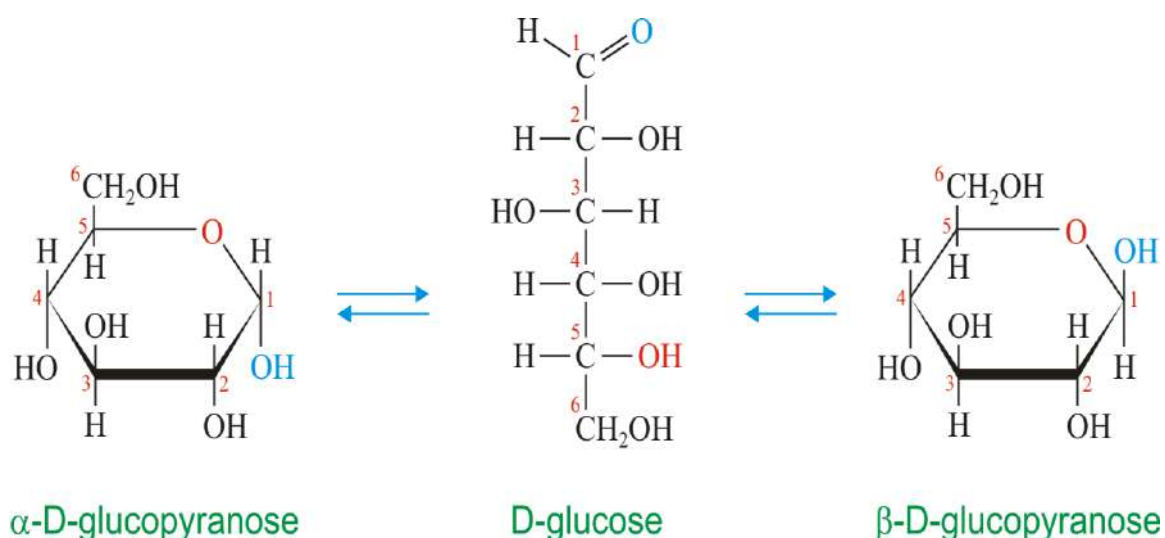


Figure08 : Configuration anomérique (α et β)

<https://glossary.periodni.com>

II.4.- Détermination de la structure des polysaccharides

Les propriétés de conformation des polysaccharides consistent en la conformation des monosaccharides, l'orientation des monosaccharides les uns par rapport aux autres et la flexibilité structurelle spatiale (Nie et *al.*, 2018). La plupart des polysaccharides, à l'exception des polysaccharides bactériens et de certains polysaccharides d'origine végétale, sont hétérogènes en termes de composition chimique des résidus de glucose et / ou de la présence d'une variété de liaisons α ou β aux différentes positions. De plus, la présence de groupements

non glycosidique tels que des sulfates ou certains acides organiques et de plusieurs modèles de liaisons dans les molécules de sucres peut encore compliquer l'analyse structurale (Maji, 2019).

La résolution des structures de glucides complexes et la compréhension de leurs fonctions sont devenues possible grâce aux l'avancement réalisés par les outils analytiques (Chouana, 2017). Une méthodologie systématique a été établie pour atteindre cet objectif (Yang et Zhang, 2009). La procédure couvre l'isolement et la purification du polysaccharide et la détermination du poids moléculaire (Harding et al., 1991), ainsi que la spectroscopie FT-IR (Kacura et al., 1999; Synytsya et al., 2003) , oxydation du periodate, hydrolyse acide partielle, méthylation, dégradation de Smith (Harris et al., 1984; Kvernheim et al., 1987), et méthodes basées sur GC-MS (Ruiz-Matute et al., 2011) pour l'étude des deux monosaccharides et liaisons glycosidiques. En outre, spectroscopie RMN unidimensionnelle et bidimensionnelle (Bubb, 2003) pour déterminer la configuration anomérique de chaque résidu de sucre, la séquence des monosaccharides et le degré de ramification.

Tableau02 : Caractéristiques de la structure primaire des polysaccharides (Venugopal, 2011).

Les caractéristiques de la structure primaire des polysaccharides	Type et exemples
Présence de différents sucres (monomères)	Unités monosaccharides : glucose, fructose, galactose ; etc.
Groupes de substitution	Par exemple : sulfate, phosphate
Liaisons glycosidiques	Par exemple : liaisons (1 → 4), (1 → 3), (1→2).
Configuration absolue	Configuration D ou L
Taille des cycles	cycle en pyranose ou furanose
Configuration anomérique	configuration α ou β

II.5.- Les différents types de polysaccharides des microalgues

Les algues marines contiennent de grandes quantités de polysaccharides, notamment, les polysaccharides de la paroi cellulaire, mais aussi des mycopolysaccharides et des polysaccharides de stockage (réserve) (Kumar et *al.*, 2008; Murata et Nakazoe, 2001 ; Chang, 2015).

II.5.1.- Les polysaccharides de réserve (intracellulaires)

Le polysaccharide de réserve des microalgues est l'amidon. L'amidon est constitué d'amylose ; et d'amylopectine. L'amylopectine est le constituant majeur de l'amidon (70 à 80%). C'est un polymère de glucose lié en α -(1,4) et ramifié toutes les 12 unités en α -(1,6). L'amylose constitue les 20 à 30% de l'amidon restant. C'est un glucane linéaire lié en α -(1,4).

Chez les microalgues, le degré de polymérisation de l'amidon est variable et sa localisation cellulaire varie en fonction de la division de l'algue. Lorsque l'amidon est présent dans le cytoplasme sous forme de grains, il est dit floridéen (chez les Rhodophyta), alors qu'il est intraplastidial chez les algues vertes (comme chez les végétaux supérieurs) (Villay, 2013).

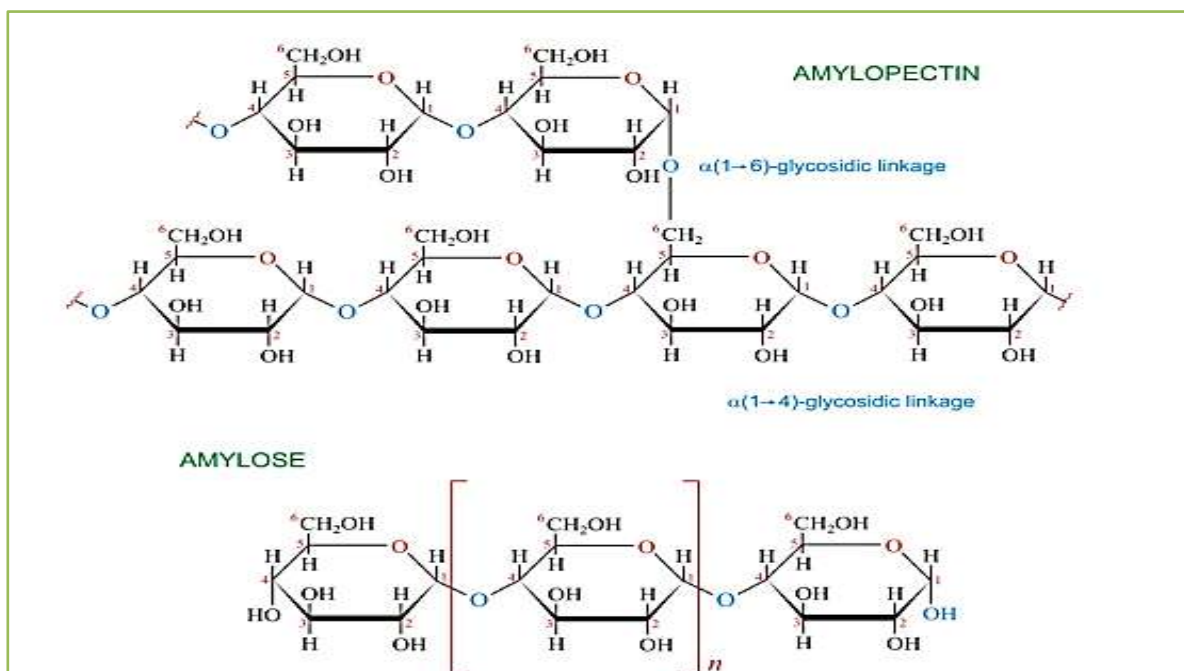


Figure09 : Structures de l'amylose et de l'amylopectine (Generalic, 2013).

II.5.2.- Les polysaccharides de structure (fibrillaires)

Les PS de la paroi cellulaire fibreuse est généralement de nature cellulosique et/ou hémicellulosique. Elles sont des polymères de glucoses liés en β -(1,4) ou β -(1,3), et dans certaines espèces de xylose ou de mannose (Kornprobst, 2005).

Le polysaccharide fibrillaire de *Chlorella vulgaris* est un β -(1,3)-glucane avec une potentielle activité antitumorale et immunostimulant (pignolet et al., 2013).

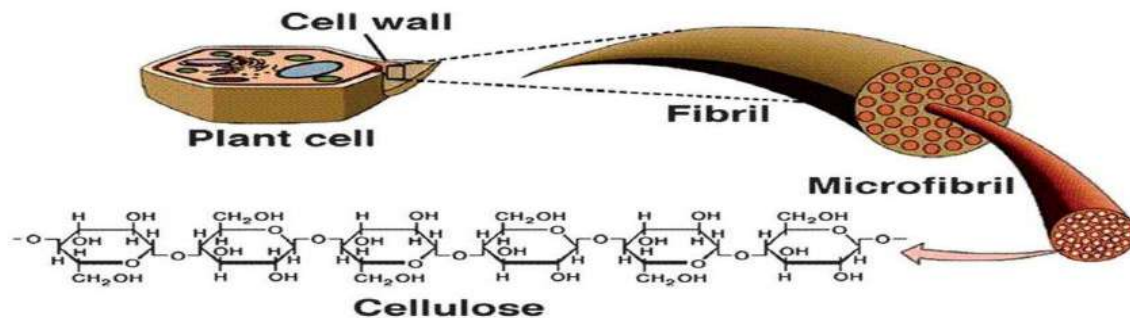


Figure10 : Disposition des fibrilles, des microfibrilles et de la cellulose dans les parois cellulaires (Moore et al., 1998).

II.5.3.- Exopolysaccharides (polysaccharides extracellulaires)

Les microalgues peuvent excréter de grandes quantités de polysaccharides (exopolysaccharides) qui représentent une quantité considérable de carbone organique (Passow, 2002).

Ces exopolysaccharides, contrairement aux polysaccharides de la paroi cellulaire et à l'amidon intracellulaire, ont des structures très complexes comprenant souvent jusqu'à 9-12 monosaccharides différents et plusieurs substituants non sucrés. Les exopolysaccharides des microalgues peuvent rester associés à la surface cellulaire (polymères liés aux cellules) et / ou libérés dans l'environnement environnant sous forme de polysaccharides libérés (RPS) (Arad et Ontman, 2010 ; Philippis et al., 1998, 2001). Parfois, ils sont appelés exopolysaccharides (EPS) ; polysaccharides extracellulaires (ECPS), protéoglycans extracellulaires (EPG) ; les polysaccharides (PS) et les polysaccharides sulfatés (sPS) (De Philippis et al., 1998; Gloaguen et al., 1999; Pereira et al., 2009; Raposo et al., 2015)

La production d'EPS et leur composition dépendent des espèces d'algues, c'est-à-dire la souche microalgale, de la composition et l'état nutritionnel du milieu de culture, à savoir la source d'azote (Banerjee et al., 2002), le rapport N / P et la carence en silice (pour les diatomées), et de la phase de croissance de la culture. Certaines microalgues produisent de

grandes quantités d'EPS pendant la phase stationnaire, tandis que d'autres microalgues augmenteront la production et continueront à libérer, même dans la phase de croissance exponentielle de l'organisme (Ramus et Robins, 1975).

Les EPS sont des molécules d'une grande importance écologique, qui sont liées à la fois à la survie de l'organisme et à la forme physique écologique. Ces sécrétions polysaccharidiques représentent une barrière physique protégeant les cellules contre les agents nocifs et / ou les pressions environnementales et servent dans un large éventail de processus physiologiques notamment ; adhésion cellulaire, interactions cellule-cellule et formation du biofilm (Raposo et *al.*, 2013).

II.6.- Caractéristiques morphologiques des polysaccharides extracellulaires des microalgues et des cyanobactéries

Dans les microalgues et les cyanobactéries, les EPS sont visibles sous forme de masse muqueuse entourant les cellules ou un groupe de cellules. Ils peuvent adhérer étroitement aux cellules et / ou être libérés plus ou moins abondamment dans le milieu environnant (Sutherland, 1982; Decho, 1990 ; Philippis et Vincenzini, 1998 ; Wotton, 2004).

Ils peuvent être structurés comme une gaine(LPS), qui est une couche mince immédiatement à côté de la membrane cellulaire externe contenant des fibres concentriques ou radiales (Figure11), ou comme une capsule(CPS), qui est intimement associée à la surface cellulaire et peut être lié de manière covalente à la paroi cellulaire(Figure12). Lorsque les EPS sont approximativement associées à la surface des cellules et ne constituent pas des enveloppes avec des limites définies, ils sont généralement englobés sous le terme «mucus» (Figure13). Les EPS s'assemblent comme une tige pour assurer l'adhésion cellulaire (Figure14), suivi d'une éventuelle structuration en capsule ou en gaine. La tige est une structure de fixation permanente (Daniel et *al.*, 1987; Wang et *al.*, 1997; Aboal et *al.*, 2012).

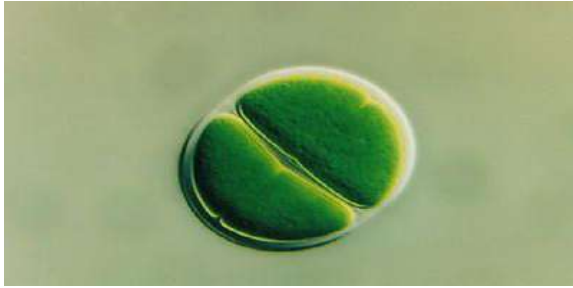


Figure 11 : Gaine de la cyanobactérie unicellulaire *Chroococcus sp.* observée au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine (d'après De Philippis et Vincenzini, 1998).

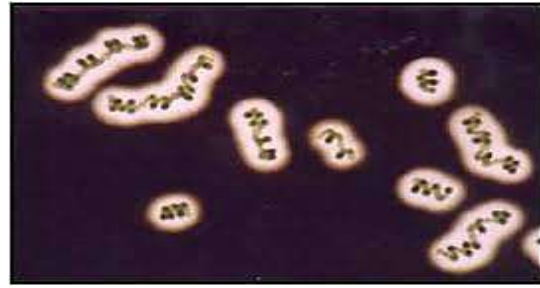


Figure 12 : Photomicrographie montrant la capsule polysaccharidique de la Cyanobacterium *Cyanospira capsulata* observée au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine (avec l'aimable autorisation du Dr Claudio Sili, Institut d'étude des écosystèmes, CNR, Italie)



Figure 13 : mucilage dispersé (slime) produit par la cyanobactérie *Cyanothece PCC9224* observé au microscope à contraste d'interférence différentiel de Normarski, après coloration à l'encre de Chine (d'après De Philippis et Vincenzini 1998)

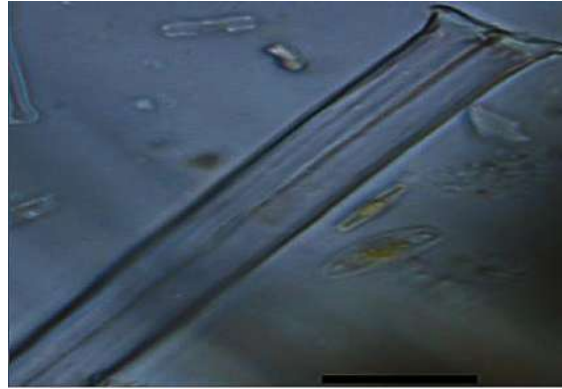


Figure 14 : Photomicrographie montrant la tige de *Didymosphenia geminata* (Aboal et al., 2012).

II.7.- Diversité des exopolysaccharides microalgues

Les exopolysaccharides de microalgues sont très diversifiés de sorte que leurs monomères et leurs proportions peuvent varier considérablement par rapport à diverses espèces de microalgues, même entre les souches d'une seule espèce (tableau04) (Hanlone et al., 2006).

La variation des conditions physiologiques influence grandement leur composition. En effet, les caractéristiques structurales et compositionnelles des exopolysaccharides microalgues peuvent affecter de manière significative les propriétés physico-chimiques et les activités biologiques de l'EPS, y compris le poids moléculaire, la composition des résidus de sucre, le niveau de sulfatation, la distribution des groupes sulfate dans le squelette du polysaccharide et la stéréochimie, etc (Xiao et Zheng, 2016).

Tableau03 : Espèces marines de microalgues / cyanobactéries produisant du PS; et leurs principaux sucres neutres (Raposo et *al.*, 2015).

Source	Type de PS	Principaux sucres neutres	Activité /Application	Références
Microalgues				
Diatomées				
<i>Cylindrotheca closterium</i>	sPS	Xyl, Glc, Man, Rham		Staats et <i>al.</i> , 1999; Pletikapic et <i>al.</i> 2011
<i>Navicula salinarum</i>	sPS	Glc, Xyl, Gal, Man		Staats et <i>al.</i> , 1999
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	s-EPS	Glc, Man, Xyl, Rham	Anti-adhésif	Guzman et <i>al.</i> , 2003; Ford and Percival 1965a, b
<i>Haslea ostrearia</i>	EPS			Rincé et <i>al.</i> , 1999
<i>Nitzschia closterium</i>	EPS			Penna et <i>al.</i> , 1999
<i>Skeletonema costatum</i>	EPS			
<i>Amphora sp</i>	EPS			Chen et <i>al.</i> , 2011
<i>Chaetoceros spp.</i>	EPS	Rham, Gal, Man, Fuc,		Urbain et <i>al.</i> , 2012
Chlorophytes				
<i>Chlorella stigmatophora</i>	sPS	Glc, Xyl, Fuc	Anti inflammatoire, Immunomodulateur.	Guzman et <i>al.</i> , 2003.
<i>C. autotrophica</i>	sPS			Guzmán-Murillo et <i>al.</i> , 2000
<i>C. vulgaris</i>	PS	Rham, Gal, Arab,2-O-Methyl-Rham	Antitumorale, agent de prévention des infections	Nomoto et <i>al.</i> , 1983 ; Ogawa et <i>al.</i> ,1997 ; Ogawa et Ikeda, 1999.
	B-(1,3)-	Glc		

glucan				
<i>Dunaliella salina</i>	EPS	Gal, Glc, Xyl, Fru		Mishra et al., 2011
<i>Ankistrodesmus angustus</i>	EPS			Chen et al., 2011
<i>Botryococcus braunii</i>	EPS	Gal, Fut, Glc, Rham		Allard et al., 1987 ; Allard et al., 1990
Rhodophytes				
<i>Porphyridium sp</i>	sPS	Xyl, Gal, Glc	Anti-inflammatoire, immunomodulateur, prévention de la croissance des cellules tumorale, anti-adhésif, antiviral.	Geresh et al., 1991 ; Talyshinsky et al., 2002.
<i>Porphyridium cruentum</i>	sPS	Xyl, Gal, Glc, GlcAc, 3-O-Methyl- Xyl	Anti-oxydant et anti- radicalaire, antiviral, Immunomodulateur, antibactérien, antilipidémiques, anti-glycémique	Garcia et al., 1996 ; Huang et al., 2005
<i>Porphyridium purpureum</i>	sPS		Antiviral	Radonic et al., 2010
<i>Rhodella reticulata</i>	sPS	Xyl, Rham, 3- O-Méthyl- Rham, 4-O- Méthyl-Gal.	Antiviraux, Anti- glycémiques, prévention de la croissance des cellules tumorales.	Geresh et al., 1991 ; Talyshinsky et al., 2002 ; Dubinsky et al., 1992.
<i>Rhodella maculata</i>		Xyl, Gal, Glc, 3-O-Methyl- Xyl		Evans et al., 1974; Fareed et al., 1997
Cyanobactéries				
<i>Arthrospira platensis</i>	EPS	Gal, Xyl, Glc, Fru,	Antiviral, antibactérien, prévention de la croissance de tumeur cellulaire.	Senni et al., 2011 ; Radonic et al., 2010 ; Hayashi et al., 1996 ; Martinez et al., 2005 ; Lee et al., 2000;
	s-Spirulan	Rham, Fuc, Glc, 3-O- Méthyl-Rham	Anti-prolifératif, anti- adhésif, anti- métastatique.	Kaji et al.,

		2004 ;		
<i>Anabaena,</i> <i>Gloethece,</i> <i>Nostoc,</i> <i>Aphanocapsa,</i> <i>Phormidium,</i> <i>Synechocystis,</i> <i>Cyanothece</i>	sPS			Senni et <i>al.</i> , 2011
Dinoflagellates				
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	sPS	Man, Gal, Glc	Antiviral	Hasui et <i>al.</i> , 1995
<i>Gyrodinium impudicum</i>	sPS	Gal	Anti-inflammatoire, Immunomodulateur, Anti-prolifératif.	Yim et <i>al.</i> , 2007 ; Bae et <i>al.</i> , 2006 ; Yim et <i>al.</i> , 2005 ; Yim et Kim.2004

II.8.- Biosynthèse et métabolisme des exopolysaccharides (EPS) des microalgues

Chez les microalgues, la synthèse des polysaccharides est réalisée dans l'appareil de Golgi, tandis que dans le cytoplasme pour les cyanobactéries (Domozych, 1999 ; Keidan et *al.*, 2009). Les principales étapes de la synthèse d'EPS dans les microalgues et les cyanobactéries sont : la production de sucres activés (molécules précurseur), leur assemblage par les glycosyltransférases (GT) (les enzymes clés impliquées dans la biosynthèse d'EPS), après la transformation et l'exportation de polymères dans le compartiment extracellulaire ou en tant que composants intramembranaires (Rossi et Philippis, 2006).

Les glycosyltransférases (GT) sont responsables de la synthèse des liaisons glycosidiques à partir du sucre activé par le phosphate donneurs; elles sont impliquées dans la synthèse des unités répétitives d'EPS. Justement, ils sont impliqués dans la biosynthèse des disaccharides, oligosaccharides et des polysaccharides en catalysant le transfert de fragments de sucre d'un donneur activé vers des molécules accepteurs spécifiques, différentes familles utilisant des nucléotides diphospho-sucres, des nucléotides monophosphosucres et des phosphates de sucre (EC 2.4.1.x) et des protéines apparentées, en suivant la méthode proposée par Campbell et *al.* (1997) et Coutinho et *al.* (2003).

Les GT catalysent la synthèse et le transfert des unités répétitives sur un support lipidique à l'interface entre le cytoplasme et la membrane interne. L'unité de répétition est ensuite «retournée» à travers la membrane interne par la protéine membranaire Wzx et Wzy catalyse la polymérisation d'autres unités de répétition dans l'espace périplasmique. Le polysaccharide

en croissance est ensuite transloqué et exporté à travers la membrane externe par les protéines Wzc, Wzb, Wza (voir le figure15) (Delattre et al., 2016).

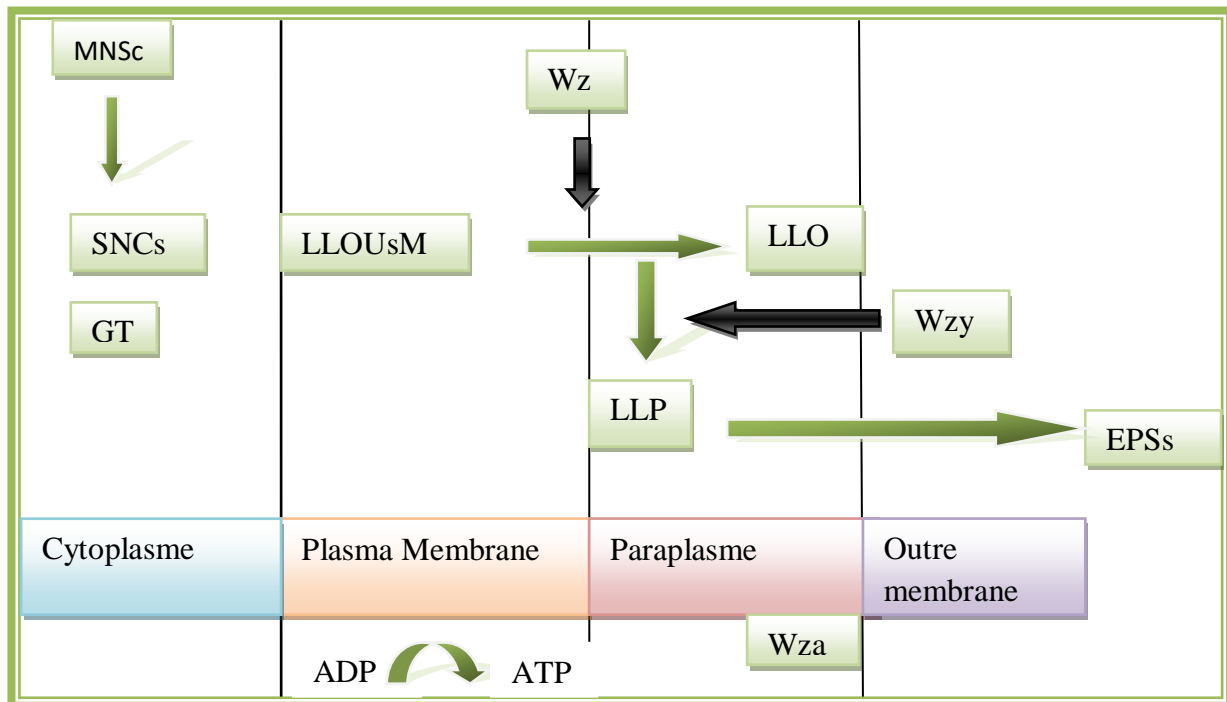


Figure15 : Voie proposée pour la synthèse d'EPS et compartimentation (Adapté de Pereira et al., 2009). **MNS** : Monosaccharides ; **SNC** : nucléotides de sucre, **GTs** : glycosyltransférases, **LLOUs** : Unités d'oligosaccharides liés aux lipides, **LLPS** : Unités de polysaccharides polymérisés liés aux lipides ; **Wzx, Wzy, Wza** : protéines membranaires.

II.9.- Activités biologique et applications des polysaccharides microalgal

Plusieurs espèces de microalgues, y compris les cyanobactéries (algues bleu-vert), synthétisent de grandes quantités de polysaccharides, qui sont présents dans leurs boues ou libérés dans les milieux de croissance. Ces polysaccharides peuvent avoir des activités biologiques intéressantes et des applications commerciales potentielles. Parmi les microalgues les plus cultivées dans le commerce on trouve majoritairement *Chlorella* et *Spirulina*. Entre autres espèces de cyanobactéries, *Phormidium* est le meilleur producteur de polysaccharide extracellulaire (Venugopal, 2011).

II.9.1.- Application thérapeutique

Les PS des microalgues sont utilisés comme des antiviraux, des antibactériens, des anti-inflammatoires, des immunomodulateurs, des antilipidémiques, des anti-glycémiques, des anti-adhésifs, des antioxydants des anti-tumoraux.

II.9.1.1. Activité antivirale

De nombreuses études ont déjà mis en évidence que les polysaccharides libérés dans le milieu de culture par certaines microalgues marines présentent une bioactivité antivirale contre différents types de virus, mammifères ou non, tels que VIH-1, le HSV-1 et HSV-2, VACV (Raposo et *al.*, 2015).

L'activité antivirale est probablement la qualité la plus étudiée des polysaccharides sulfatés des microalgues marines, en particulier celle produite par *Porphyridium*.

Hayashi et ses collègues, 1996 ; Nagaoka et *al.*, 1999 ; Geng et *al.*, 2008, ont noté que le sPS inhibe l'infection par différents virus en empêchant la pénétration des particules virales dans les cellules hôtes, mais que d'autres mécanismes pouvaient également être impliqués, tels que l'inhibition de fixation / adsorption, voir l'inhibition de la réplication au cours des premières phases du cycle viral sans aucune toxicité pour les cellules hôtes (Rocha et *al.*, 2005).

II.9.1.2.- Activité anti-adhésive

Le rôle principal des glucides en tant que sites de reconnaissance sur les surfaces cellulaires auxquels les micro-organismes peuvent se fixer, permettant l'infection, a déjà été mis en évidence (Ofek et *al.*, 1978).

Les polysaccharides sulfatés provenant d'algues unicellulaires ont montré la capacité de prévenir l'adhésion de micro-organismes pathogènes, ce qui indique que cette hypothèse peut être utilisée en thérapeutique anti-adhésive (Murillo et *al.*, 2000).

II.9.1.3. Activité anti-inflammatoires et immunomodulatrices

Les polysaccharides de microalgues marines, comme *Porphyridium*, *Phaeodactylum* et *Chlorella stigmatophora*, avaient déjà démontré leurs propriétés pharmacologiques telles que l'activité anti-inflammatoire et comme agents immunomodulateurs. L'effet stimulateur direct de *P. tricornutum* sur les cellules immunitaires a été mis en évidence par l'activité phagocytaire positive testée *in vitro* ou *in vivo*, et l'activité de l'extrait de sPS de *C.*

stigmatophora a montré des effets immunosuppresseurs (Guzman et al., 2003). D'autre part, l'inhibition de la migration des leucocytes semble être liée à l'activité anti-inflammatoire des polysaccharides (Matsui et al., 2003). Comme le déplacement des leucocytes vers le site de la lésion contribue à une libération supplémentaire de cytokines et à la production d'oxyde nitrique, la thérapeutique doit être efficace contre cette inflammation excessive. En fait, le sPS de *Porphyridium* semble être capable d'exercer bien cet effet car il inhibe le mouvement et l'adhésion des leucocytes polymorphonucléaires in vitro et inhibe également le développement de l'érythème in vivo (Matsui et al., 2003).

II.9.1.4.- Activité anti-oxydantes

Comme le notent Raposo et al. (2014). Les PS sulfatés produits et sécrétés par les microalgues marines tels que : *Porphyridium* et *Rhodella reticulata* ont montré leur capacité à empêcher l'accumulation et l'activité des radicaux libres et des espèces chimiques réactives.

De plus, En raison de leurs fortes propriétés antioxydants, la plupart des sPS des macro et microalgues marines sont prometteuses car elles peuvent protéger la santé humaine contre les blessures induites par les ROS, qui peuvent entraîner le cancer, le diabète, certaines maladies inflammatoires et neurodégénératives et certains autres troubles liés au vieillissements, tels que la maladie d'Alzheimer et les maladies cardiovasculaires(Raposo et al., 2015).

L'influence de la teneur en sulfate sur l'activité antioxydants dépend plutôt de l'origine du PS. Il semble en outre que la fraction protéique du PS puisse jouer un certain rôle sur le pouvoir antioxydant (Grossman et al., 2005). Zaho et al. (2008) ont constaté que l'activité antioxydants du sPS n'est évidemment pas seulement liée au poids moléculaire et à la teneur en esters sulfatés, mais également à la teneur en acide glucuronique et en fructose.

II.9.2.Application industrielles

Comme déjà mentionné par (Raposo et al., 2014). Le PS des microalgues peut trouver des applications dans l'industrie alimentaire comme agents émulsifiants et gélifiants, comme agents floculants et hydratants, stabilisants, agents épaississants, c'est-à-dire comme additifs alimentaires (Bernal et Llamas, 2012).

Les EPS sécrétés par les cyanobactéries pourraient trouver application industrielle comme gommes, biofloculants, conditionneurs de sol et biosorbants (Li et al., 2001; Philippis et al., 2011). Même dans l'industrie médicale, ces polymères sont considérés comme

prometteurs car ils se sont avérés avoir un effet sur le système immunitaire humain, exerçant une activité anti tumorale (Pugh et *al.*, 2001) ou agissant comme un agent antiviral (Talyshinsky et *al.*, 2002), comme dans le cas des EPS obtenus à partir de *Arthrospira platensis* et *Arthrospira maxima* (Hayashi et *al.*, 1996; Hernández-Corona et *al.*, 2002).

II.10.- Activité antidiabétique des polysaccharides des microalgues

Les médicaments antidiabétiques oraux et l'insuline sont les principales thérapies pour le diabète sucré. Cependant, une résistance à l'insuline et des effets secondaires sont apparus après une utilisation continue de ces médicaments. Il est donc nécessaire de rechercher des médicaments utiles, inoffensifs et peu coûteux pour les patients atteints de diabète de type 2.

Les thérapies à base de polysaccharides sont largement utilisées dans les traitements cardiovasculaires et hématologiques. Un grand nombre de polysaccharides présentent une activité biologique contre diverses maladies chroniques et ont de fortes propriétés immunomodulatrices pour les êtres humains (Kumar, 2009 ; Paulsen, 2000). Les recherches récentes sur les polysaccharides ont joué un rôle décisif dans la caractérisation de divers antidiabétique, antibiotique et antitumorale. Le mécanisme du polysaccharide impliqué dans l'activité antidiabétique peut inclure une augmentation des niveaux d'insuline sérique, une réduction du taux de glucose sanguin et une meilleure tolérance au glucose (Mishra, 2010).

L'alpha-D-glucosidase de mammifère, située dans la membrane de surface des cellules intestinales, est l'enzyme clé qui catalyse l'étape finale du processus digestif des glucides. Ainsi, les inhibiteurs de l'alpha -D-glucosidase peuvent retarder la libération du glucose des glucides complexes alimentaires et retarder l'absorption du glucose, entraînant une réduction du taux de glycémie plasmatique postprandial et entraînant une réduction du taux de glycémie plasmatique postprandial et suppression of postprandial hyperglycémie (Hong et *al.*, 2008).

L'acarbose, le miglitol et le voglibose sont des inhibiteurs compétitifs de l'alpha-D-glucosidase intestinale et réduisent les excursions de glucose après les repas en retardant la digestion et l'absorption de l'amidon et des disaccharides dans le diabète sucré de type 2. L'intervention avec l'acarbose a également permis de réduire les événements cardiovasculaires chez les diabétiques. Les inhibiteurs de l'alpha-D-glucosidase sont cliniquement critiqués pour leurs effets indésirables tels que flatulences, diarrhées, douleurs abdominales, augmentation des enzymes hépatiques et malnutrition (Martha et *al.*, 2009).

Les algues marines sont riches en polysaccharides, qui représentent plus de 50% de leur poids sec. Des études ont démontré que les polysaccharides d'algues marines sont principalement des polysaccharides sulfatés (Ngo et Kim, 2013). Des études antérieures ont montré que de nombreux polysaccharides d'algues marines, dont la laminarine, l'exopolysaccharide de *Porphyridium cruentum*, les polysaccharides de *Spirulina* et les polysaccharides de *Enteromorpha prolifera* (Chlorophyceae), jouent un rôle pour abaisser la glycémie et traiter les complications du diabète, telles que l'hyperlipidémie (Jin et *al.*, 2004 ; Zhang et *al.*, 2008). Cependant, différents polysaccharides d'algues marines contiennent différents agents fonctionnels; par conséquent, ils peuvent travailler pour prévenir ou traiter le diabète par différents mécanismes et des études complémentaires dans ce domaine sont justifiées.

La *Chlorella sp* est une espèce eucaryote de microalgues unicellulaires vertes qui appartient au groupe des Chlorophytes (Plaza et *al.*, 2009). Cette espèce est riche en chlorophylle, protéines, polysaccharides, vitamines, minéraux et acides aminés essentiels. Cette microalgue contient 53% de protéines, 23% de glucides, 9% de lipides et 5% de minéraux et d'oligoéléments (Costa et *al.*, 2013). Des études ont montré que l'extrait exopolysaccharidique issu de *Chlorella sp.*, a une capacité d'inhiber l'activité de l'enzyme alpha-Dglucosidase, et réduire la digestion et l'absorption du glucose dans l'intestin.

Chapitre III
Matériels et Méthodes

III.1.- Présentation du site d'étude

III.1.1.- Localisation géographique

La wilaya de Ouargla se situe dans le Sud-Est de l'Algérie, elle est à 580 Km au Sud-est d'Alger, couvrant un territoire de 163 230 km². Elle se situe dans le bas Sahara dans les limites de latitude 28°45' et 33°55' et de longitude 3°et 9°35'. Elle est limitée par la wilaya d'El-oued au nord, la wilaya d'Illizi au sud, les wilayat de Djelfa, Biskra et Ghardaïa au Nord-Ouest et Ouest, la wilaya de Tamanrasset au Sud-ouest et par la Tunisie à l'Est (Salhi, 2017).

La wilaya de Ouargla regroupe beaucoup de zones humide les principales sont : Chott Aïn Beïda, Sebket Safioune, Sebka Oum Raneb et lac de Hassi Ben Abdellah.

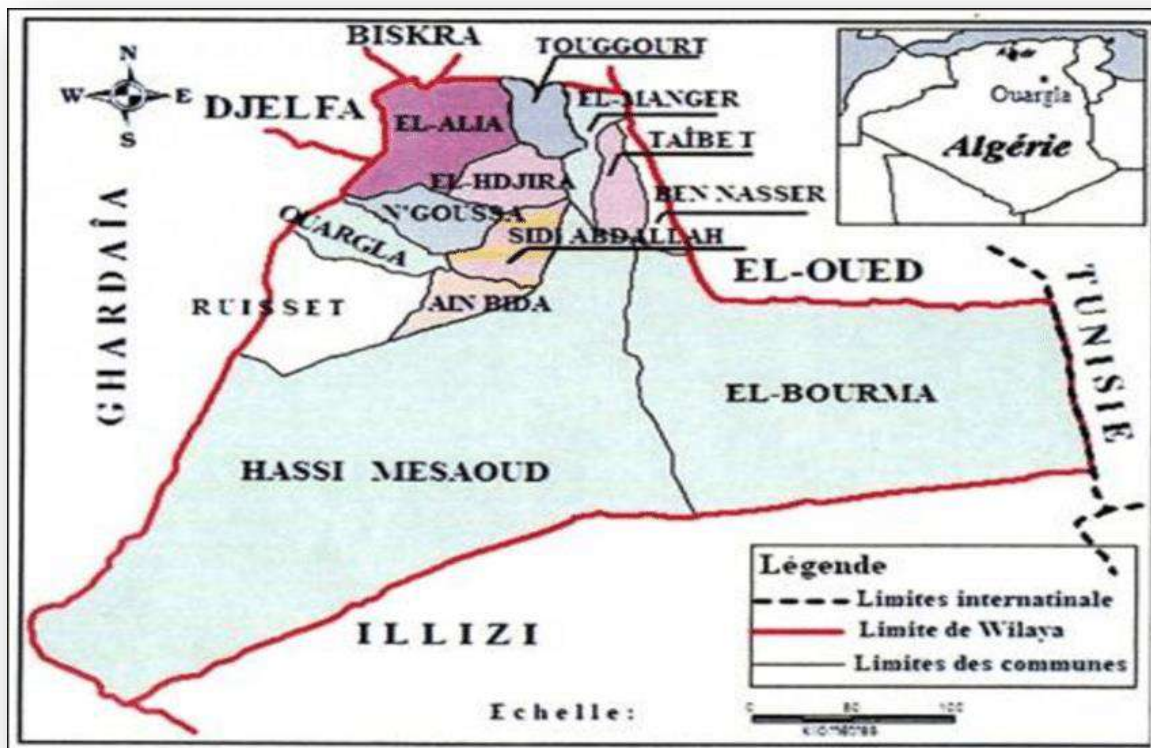


Figure 16 : Situation géographique de la région d'Ouargla (Zatout et *al.*, 2012)

Notre étude est faite à partir du chott d'Aïn El-Beïda (figure16), elle est une partie de l'oasis d'Ouargla qui est l'une des plus grandes oasis du Sahara algérien. Elle occupe le centre d'une cuvette endoréique appelée cuvette de Ouargla, situé à 6 km à l'Est de la ville d'Ouargla et limite par les longitudes 5°21'36'' et 5°22'48'' Est et les latitudes 31°57'00'' et 31°58'30'' Nord (Hacini et *al.*, 2012).



Figure17 : Photo original de site de prélèvement chott Aïn El-Beïda janvier 2020

III.2.- Echantillonnage

Un échantillon d'eau est prélevé du chott Aïn El-Beïda le 01 Mars 2020 à 09 :00 h.

III.2.1.- Méthode de prélèvement

La collecte d'échantillons de microalgues est une étape importante pour l'isolement des microalgues de leur environnement naturel. Les microalgues se trouvent dans différentes conditions environnementales et différents habitats tels que glace, sources d'eau chaude, eaux douces, eaux salées, eaux usées, roches, masses salines, etc (Mutanda et *al.*, 2011).

Après avoir collecté un échantillon de phytoplancton. Il est nécessaire de consigner les détails pertinents de la collection. Ceux-ci peuvent inclure : l'emplacement, la date, la profondeur de l'échantillon, la température de l'eau, etc. (Jutson et *al.*, 2016).

Les échantillons sont prélevés selon la méthode de prélèvement de Lengyel et *al.* (2012) :

-Pour le 1^{er} échantillon, il est prélevé dans les eaux de surface à l'aide des flacons propres en verre (1-50 cm),

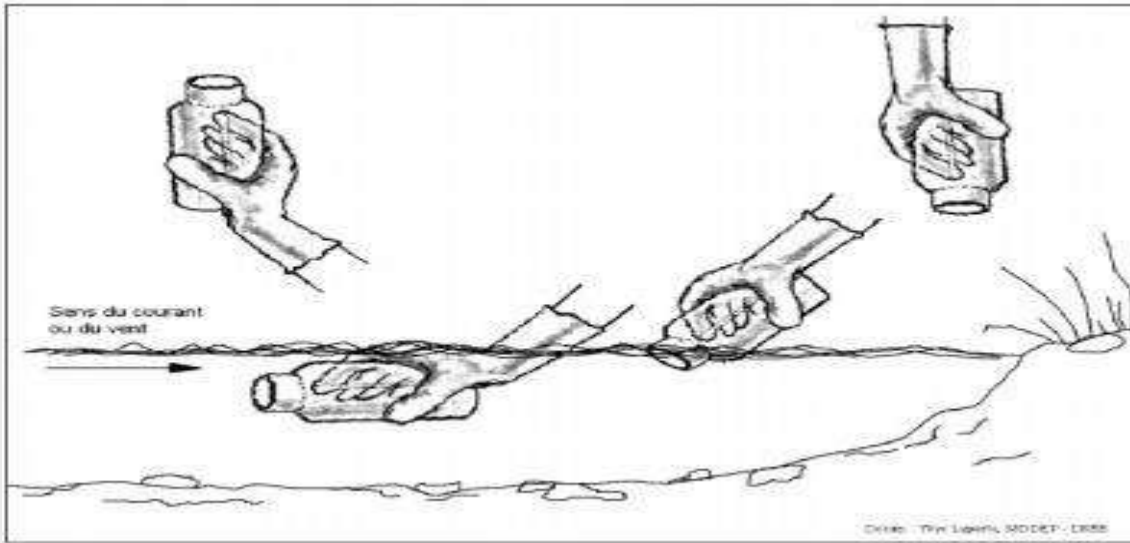


Figure18 : Méthode de prélèvement de l'eau de surface
(<https://www.federationdeslacs.ca>)

- Le 2^{ème} échantillon est prélevé à partir des eaux plus au moins profondes (>50 cm) par un flacon propre en verre (Lengyel et *al.*, 2015).

III.2.2.- Mesure des paramètres physicochimiques

Les paramètres physicochimiques de l'eau du lac Chott Ain El-Beida sont mesurées sur place à l'aide d'un multi-paramètre portable (HANNA). La sonde de l'appareil est plongée dans l'eau du site de prélèvement après les paramètres physicochimiques ont été enregistré (Rodier et *al.*, 2009).

Ainsi, les coordonnées géographiques ont été enregistrées pour référence et rééchantillonnage (Mutanda et *al.*, 2011). Les paramètres mesurés sont : le pouvoir d'hydrogène (pH), la température (T), la conductivité électrique, la salinité ...etc.

III.3.- Les équipements pour l'isolement et la culture

Les équipements utilisés sont nécessaires à la préparation des solutions de stock et des milieux de culture :

- La verrerie (flacons de 200 ml, Erlenmeyer, tubes à essai, béchers, pipettes, etc.) ;
- Du consommable (par exemple ; pipettes, boîtes de Pétri, flacons en plastique) ;
- Une balance analytique avec sensibilité de 1 mg ;
- Un agitateur magnétique ;

- Le vortex ;
- Un autoclave est généralement indispensable pour la stérilisation, car il s'agit des méthodes de stérilisation les plus populaires ;
- Un pH-mètre pour mesurer le pH du milieu de culture ;
- Des sels minéraux sont essentiels à la préparation des solutions de stocke, des milieux de culture ;
- Un réfrigérateur est nécessaire pour conserver les solutions mères et les milieux de culture ;
- Un microscope optique (Lengyel et *al.*, 2012).

III.4.- Préparation des milieux de culture

III.4.1.-Le choix des milieux

Plusieurs milieux peuvent être utilisés pour la culture des microalgues. Le choix des milieux peut être basé sur les habitats naturels des espèces ou en fonction du but de la culture (Anderson, 2005).

Zatout et *al.* (2017) et Khallef et *al.* (2018), ont montré que l'eau du chott de Ain El Beida est une eau saline de pH variés entre 7,7 et 8 et riche en oligo-éléments. Toutes ces données nous ont conduit à choisir 4 milieux sélectifs ; Le milieu Guillard f/2 pour les microalgues d'eau salée (Anderson, 2005) et le milieu « Bold's Basal » BBM généralement utilisé pour plusieurs microalgues d'eau douce et cyanobactéries (Anderson, 2005 ; Dayananda et *al.*, 2007) et le milieu BG-11 est le milieu standard de culture des cyanobactéries, parfois utilisé pour d'autres microalgues (Allen et Stanier, 1968), le milieu ZARROUK modifié (Cogne et *al.*, 2003) est utilisé pour la culture de la cyanobactérie *Arthrospira platensis* (spiruline).

III.4.2.- Préparation des milieux de culture

Les milieux sont généralement constitués de trois composants: macronutriments, oligo-éléments et vitamines. Les trois composants sont appelés solutions de stocke. Elles sont fabriquées séparément pour chaque composant pour but d'éviter des combinaisons directes de plusieurs sels minéraux qui peuvent causer une précipitation indésirable. Ensuite, les solutions préparées sont conservées à 4 °C dans des flacons en verre hermétiquement fermée afin que la concentration finale de la solution ne change pas (Andersen et Kawachi, 2005).

Les éléments (les ingrédients chimiques) utilisés et leurs quantités et concentrations sont présentés dans l'annexe I.

- Mode d'opérateur

- Pour préparer un milieu de culture liquide on ajoute l'eau distillée aux milieux préparés (solution de stocke) pour accorder leur volume à 1L pour chaque milieu de culture, dans le but d'isolement ;
- Pour préparer 1L de milieu de culture solide on ajoute 15g d'agar et chauffer la solution, ensuite les milieux sont autoclaves à 120C° pendant 20min ;



Figure19 : Photo de préparation des milieux de culture solides

- Après l'autoclavage, ces milieux de culture sont coulés dans des boites de pétri et assurer que la gélose ne se remplit pas jusqu'aux $\frac{3}{4}$ des plats ;
- Une fois la gélose refroidie, les boites peuvent être utilisées immédiatement ou stockées pendant une semaine pour éviter toute contamination (Anderson, 2005).

III.4.3.- Le pH du milieu de culture

Le contrôle du pH dans les milieux de culture est important, car certaines algues ne pousseront que dans des plages de pH étroitement définies (Devi et Sahoo, 2015).

Le pH du milieu est mesuré avant l'autoclavage à l'aide d'un pH-mètre. En plus, le pH est ajusté par des solutions de HCl ou NaOH (Andersen, 2005). Les pH des milieux utilisés sont présentés (dans le tableau 04) :

Milieu	F/2	BBM	BG-11	ZARROUK
Ph	/	6,6	7,5	9,5

III.5.- Isolement et purification

III.5.1.- Isolement sur milieu solide

La méthode la plus courante est l'isolement unicellulaire par pipettes Pasteur (ensemencement par étalement) (Figure20) (Andersen et Kawachi, 2005).

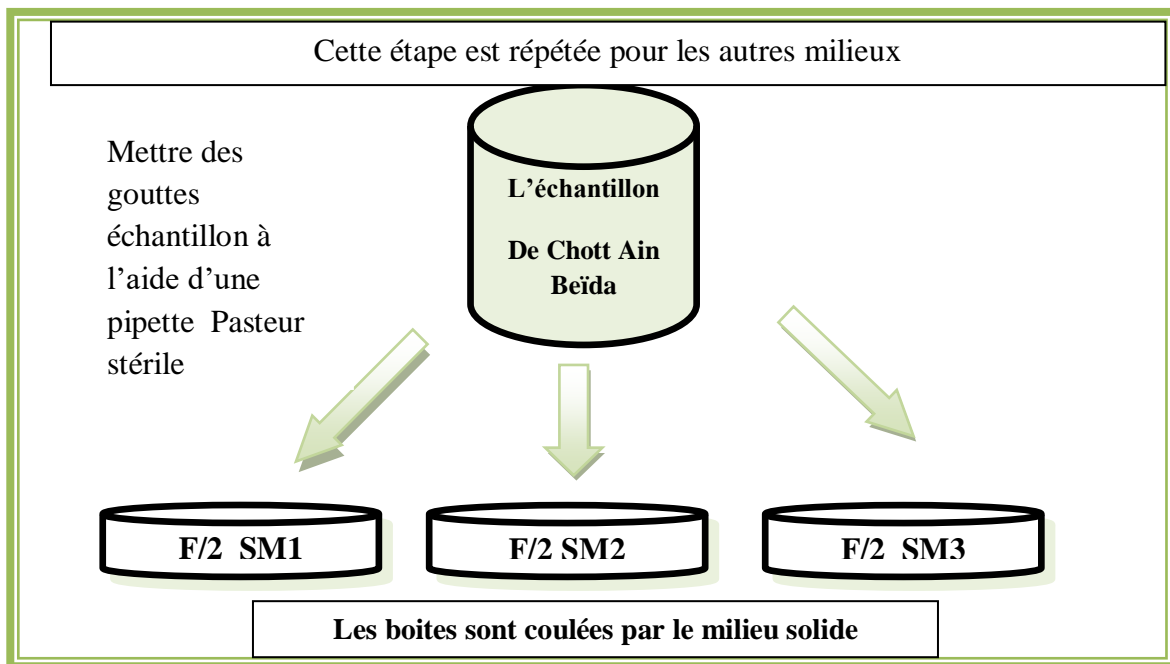


Figure20 : Schéma de l'isolement sur milieu solide

III.5.2.- Cultures d'enrichissement

L'enrichissement est le processus qui consiste à fournir un environnement approprié pour la croissance et la reproduction d'un groupe spécial de microalgues. C'est une étape préliminaire peut être utilisée pour obtenir l'isolement d'une seule espèce.

- Mode d'opérateur

- Mettre 200 ml de milieu de culture F/2 liquide et ajouter 100 ml de l'échantillon, dans un erlenmeyer de 500 ml ;
- Mettre 200 ml de milieu de culture BBM liquide et ajouter 100 ml de l'échantillon, dans un erlenmeyer de 500ml ;
- Mettre 200ml de milieu de culture BG-11 liquide et ajouter 100 ml de l'échantillon, dans un erlenmeyer de 500ml ;
- Mettre 200ml de milieu de culture ZARROUK liquide et ajouter 100 ml de l'échantillon, dans un erlenmeyer de 500ml ;



Figure21 : Enrichissement des échantillons

Les échantillons enrichis sont incubés dans un phytotron à une température de 25°C, sous la lumière avec un cycle lumière/obscurité 16/8h (Anderson et Kawachi, 2005).

III.5.3.- Technique de dilution

La technique de dilution est une autre méthode pour l'isolement des cellules unialgal, cette technique consiste à isoler les cellules par une succession de dilutions. C'est une méthode simple et rapide qui donne de bons résultats (Blancheton, 1985).

-Mode d'opérateur

- Dans cette technique, un volume connu d'échantillon est mélangé avec le milieu. Cette technique réduit la concentration de l'échantillon ;
- Dans ce processus, 8 tubes à essai contenant chacun 9 ml du milieu de culture. Les tubes à essai sont étiquetés comme (10-1 – 10-8) indiquant le facteur de dilution ;
- A l'aide d'une pipette stérile, on ajoute 1 ml de l'échantillon au premier tube à essai étiqueté comme (10-1) et mélangé par le vortex. De ce tube à essai, 1 ml de l'échantillon est prélevé et ajouté au deuxième tube à essai représenté par 10-2 et mélangé. La procédure ci-dessus est répétée pour les tubes restants (10-3 – 10-8) ;
- Les tubes à essai sont ensuite fermés avec du papier d'aluminium percé pour assurer les échanges d'air ;
- Huit séries de dilution ont été faites pour chaque milieu de culture (F/2, BBM, BG-11, ZARROUK) ;
- Les tubes à essai sont incubés dans un phytotron à une température de 25C°, sous la lumière avec un cycle lumière/obscurité 16/8h;



Figure22: Préparation des dilutions

III.6.- Purification par repiquages successifs dans un milieu solide

La purification a pour objectif d'obtenir une culture d'une seule espèce (culture pure) (Guillard, 2005). La purification sur milieu solide est probablement la plus ancienne et la plus utilisée, mais elle n'est efficace que pour les algues qui peuvent se développer sur la surface d'agar (Guillard, 2005).

- Mode d'opérateur

Après 2 semaines d'incubation, quand les microalgues commencent à se développer ;

A l'aide d'une pipette pasteur stérile on prélève une colonie de microalgues et on l'ensemence sur une nouvelle boîte pétrie.

L'incubation des boîtes pétri est faite dans le phytotron, à une température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sous la lumière avec un cycle lumière/obscurcit 16/8h, durant 7 jours.

Dès l'apparition du développement des colonies, on prélève à nouveau quelques cellules qu'on étale sur une nouvelle boîte de pétri. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une souche pure. Toutes ces manipulations s'effectuent au voisinage d'une flamme de bec Bunsen afin d'éviter les risques de contaminations.



Figure 23: Repiquage successive des colonies microalgales

III.7.- Identification morphologiques des microalgues**III.7.1.- Observation microscopique**

Après deux à 3 semaines, nous avons commencé les observations microscopiques des résultats apparus dans le milieu solide à l'aide d'un microscope optique.

III.8.- Culture en erlenmeyers

Pour préparer l'inoculum primaire à lancer en culture, on prend une colonie à l'aide de pipette Pasteur et on l'incluse dans un tube contenant 10 ml de milieu de culture, chaque espèce est cultivée dans son même milieu d'isolement, les tubes sont incubés dans un phytotron a température 25C° avec un cycle jour/nuit 16/8h.

Après quelques jours les tubes sont versés dans des erlenmeyer de volumes de 500 ml contenant 50% de leur volume total en milieu de culture. L'inoculation est faite à raison de 10% du volume final par une culture de croissance (Villay, 2013).

III.9.- Etudes des polysaccharides microalgales**III.9.1.- Sélection des espèces productrices de polysaccharides**

Les cultures obtenues après incubation sont testées afin de confirmer la production des polysaccharides (EPS). Par méthode de l'encre de chine (Camille, 1998 ; Rossi et Philippis, 2016).

III.9.1.1.- Coloration à l'encre de chine

La coloration à l'encre de chine est une méthode assez simple qui permet de mettre en évidence la présence de substances extracellulaires (exopolysaccharides) autour des cellules. Ces substances en freinant la pénétration de l'encre dans les floes, laissent apparaitre des zones non colorées (mucilage) (Rossi et Philippis, 2016 ; Zeyons, 2008).

III.9.1.1.1.- Principe de l'encre de chine

La technique consiste à piéger une goutte de la culture cellulaire entre lame et lamelle, et d'ajouter à un coin de la lamelle, une goutte d'encre de Chine. Lorsque l'encre de Chine diffuse sous la lamelle, les interactions entre colloïdes de l'encre de Chine et cellules sont révélatrices de la présence ou non d'EPS (Zeyons, 2008).

La capsule polysaccharidique apparaît comme un halo clair sur un fond noir, c'est la coloration inverse.

III.10.- Extraction des exopolysaccharides

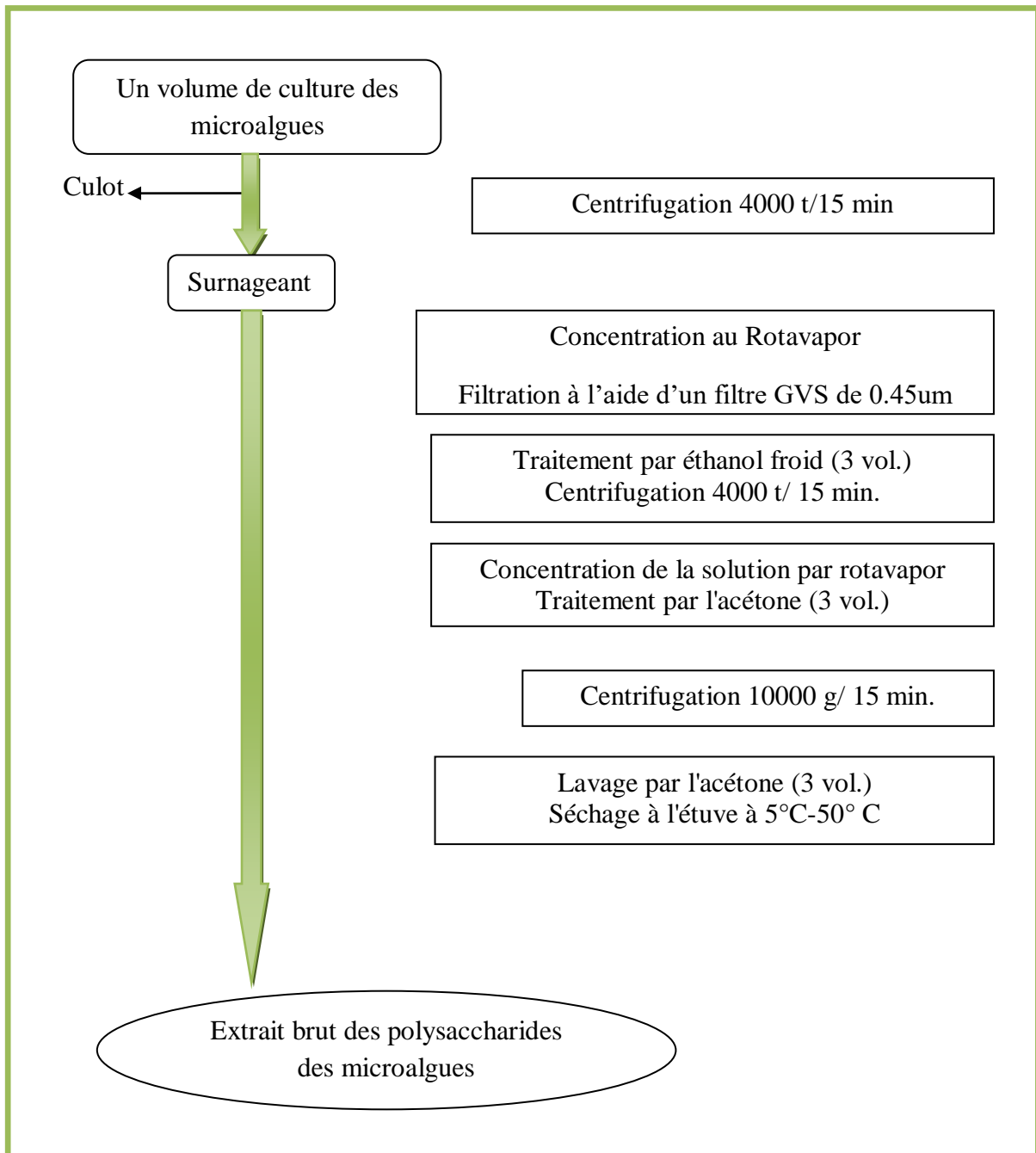


Figure 24 : Différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des microalgues selon Guo et *al.* (2018) ; Ebringerova et *al.* (2003) ; Chen et *al.* (2010) ; Herlina et *al.* (2016) ; He et *al.* (2014).

III.11.- Activité antihyperglycémiant

III.11.1.- Principe :

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

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. Ce dernier absorbe à 405 nm, qui permet d'évaluer l'activité enzymatique de l' α -Dglucosidase (Ha et al., 2012). En présence d'inhibiteur, l'activité enzymatique de l' α -Dglucosidase diminue ou inhibé. Cela est exprimé par diminution de la dégradation du substrat p-NPG (Mosihuzzman et al., 2013). L'activité inhibitrice de l'enzyme α -Dglucosidase a été déterminée selon une méthode adaptée de Bisht et al. (2013) et de Qian et al. (2015). L'acarbose est utilisé comme control positif. Le contrôle négatif représente le milieu réactionnel de l'enzyme α -D-glucosidase sans aucun aditif.

III.11.2.- Préparation des solutions et réactifs

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

– Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100 μ l)

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

– Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

Tableau 05 : Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

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

– 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.

– 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.

- Mode opératoire (Bisht et al., 2013; Qian et al., 2015)

Dans un tube sec, un volume de 500µL de solution de α-D-glucosidase (0.2U/mL) est ajouté à 100µL de différentes concentrations de polysaccharides (1.25mg/mL à 10mg/mL) ou d'acarbose (0.001M à 0.1M). Le mélange résultant est incubé à 37°C pendant 15min sous agitation, puis un volume de 125µL de p-nitrophényl-α-D-glucopyranoside (p- NPG) est additionné. Les tubes sont agités et incubés à 37°C durant 20mn. Une solution de Na₂CO₃ (1mL, 0,2mol/L) est ajoutée afin d'arrêter la réaction, et les absorbances sont mesurées à λ=405nm par un spectrophotomètre UV visible (Cui et al., 2015 ; Li et al., 2017).

Tableau06: Test de l'activité antidiabétique

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

III.11.2.- Calcul de pourcentage d'inhibition (Xu et al., 2014; Zang et Li, 2015)

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

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \frac{A_{\text{Contrôle négatif}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{Contrôle négatif}}} \times 100$$

Chapitre IV
Résultats et Discussions

IV.1.- Mesure des paramètres physicochimiques

L'analyse des paramètres physicochimiques de l'eau de chott Aïn El-Beïda, à savoir le pH, la température, la salinité, l'oxygène dissous et la conductivité sont consignés (dans le tableau 07).

Tableau 07: Paramètres physicochimiques de l'eau de chott Aïn El Beïda

Paramètres	Lac Chott Aïn El Beïda
pH	6,5
Température (C°)	11,8
Salinité	50,2
Conductivité (mS/cm)	72,10
Oxygène dissous (O.D ppm)	0,49
TDS (Total Dissolved Solids) (ppt)	35,7
Localisation (Coordonnées géographiques)	31°57'45,3''N 5°22'30,7''E

IV.1.1.- pH

La valeur du pH entre 5 et 9 affecte le taux de croissance de la flore. Il indique l'acidité ou l'alcalinité de l'eau. Il est aussi lié à la quantité de dioxyde de carbone, qui peut réagir avec l'eau (Zang et *al.*, 2011).

L'eau de chott Aïn El-Beïda représente un pH environ de 6,5. C'est donc un environnement favorable au développement des microalgues.

IV.1.2.- Température

La température est l'un des principaux facteurs écologiques qui régule, les réponses cellulaires, morphologiques et physiologiques des microalgues : Elle conditionne les possibilités de croissance et la durée du cycle biologique des espèces des microalgues.

Les températures plus élevées s'accélèrent généralement les taux métaboliques des microalgues, par contre les basses températures entraînent une inhibition de la croissance des microalgues (Munoz et Guieysse, 2006).

La mesure de température de l'eau du chott Aïn El-Beïda représente une faible température de 11,8C° à cause de faible amplitude thermique pendant le mois de mars. Cette faible température cause un ralentissement de développement des microalgues.

IV.1.3.- Salinité

La salinité est l'une des principaux facteurs de contrôle du taux de croissance des microalgues (Adenan et *al.*, 2013). Des études ont montré que les microalgues ont leurs propres salinité de croissance optimale, lorsque la salinité est supérieure ou inférieure à celle-ci sera nocif pour le taux de croissance des algues (Liu et *al.*, 2006). Le degré de salinité permet de classer l'eau selon les catégories suivantes: Eau douce ($S_n < 0,5$ g / L), eau douce à saumâtre (0,5 à 5 g / L), eau saumâtre à salée (18 à 30 g / L) et eau salée ($S_n > 30$ g / L) (Hecker et *al.*, 1996).

La salinité de l'eau du chott Aïn El-Beïda est de 50,2g/l indique que l'eau est salée à un impact significatif sur la biodiversité des algues.

IV.1.4.- Conductivité

La conductivité est une mesure de la capacité de l'eau à transporter un courant électrique et aussi c'est un outil pour évaluer la pureté de l'eau. Dans notre cas on note une conductivité de 72,10 mS⁻¹/cm indique que l'eau de chott Ain Beïda contient de forts concentration des minéraux, ce qui à un impact significatif sur la biodiversité des algues (Hade, 2002)

IV.1.5.- Oxygène dissous

L'oxygène dissous est en fait la quantité d'oxygène présent dans l'eau à une température donnée. On utilise parfois l'abréviation O.D. pour désigner l'oxygène dissous.

L'indice d'oxygène dissous d'Ain Beïda est de 0,49%, ce qui est très bas par rapport aux normes. Elle peut s'expliquer par la diminution de l'intensité de la photosynthèse, qui est causée par la diminution de la biomasse végétale pendant cette période froide (mois de mars) et des facteurs climatiques défavorables (Gaujous, 1995).

IV.2.- Enrichissement

L'enrichissement d'échantillon de Chott Aïn El-Beïda nous a donné des résultats positifs dans les trois milieux utilisés BBM et F/2 et BG-11 après deux semaines avec une couleur verte et une faible intensité. Ces résultats indiquent la présence des microalgues dans l'échantillon. Et un résultat négatif dans le milieu ZARROUK.

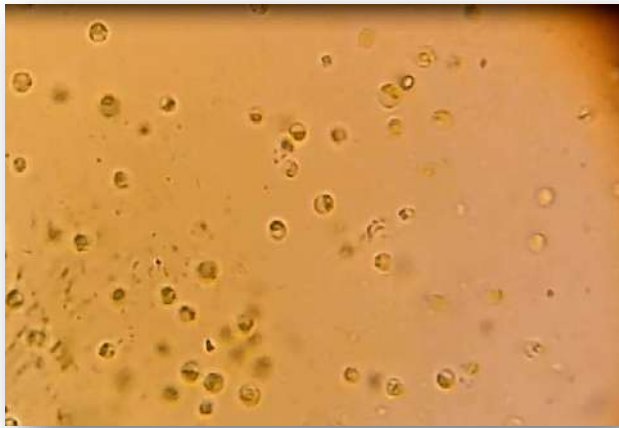
Tableau08 : Résultats d'enrichissements

Milieu	Changement de coloration	de couleur	Intensité de couleur
BBM	+	Verte	Faible
F/2	+	Verte	Faible
BG-11	+	Verte	Faible
ZARROUK	-	/	/

IV.3.- Identification morphologique des microalgues

L'observation microscopique à Gx1000 des microalgues isolées nous a permis de les identifier morphologiquement. Les espèces ont été identifiées en se basant sur les critères morphologique et taxonomique à l'aide des données Algaebase.

IV.3.1.-Identification morphologique de l'espèce isolée

Milieu d'isolement	Bold Basal Medium (BBM)
Condition de culture	Température : 25°C, photopériode (16/8 jour/nuit) sans agitation) pendant 2 à trois semaines.
pH du milieu de culture	6.6
Figure25 : Observation microscopique	
Identification morphologique	<i>Chlorella sp</i>
Classification	<i>Chlorella vulgaris</i> (Beijerinck, 1890). Domaine : Eukaryota Règne : Plantae Embranchement : Chlorophyta Classe : Trebouxiophyceae Ordre : Chlorella Famille : Chlorellaceae Genre : <i>Chlorella</i> Espèce : <i>Chlorella sp.</i>

IV.4.- Présentation de la souche isolée : *Chlorella sp.*

Chlorella sp est une espèce eucaryote de microalgues unicellulaires vertes qui appartient au groupe des Chlorophytes (Plaza et al., 2009). *Chlorella vulgaris* est l'espèce type de ce genre, qui a été décrite pour la première fois par Beijerinck en 1890, qui l'apprécie généralement et l'utilisent comme complément alimentaire. La microalgue *Chlorella* est riche en chlorophylle, protéines, polysaccharides, vitamines, minéraux et acides aminés essentiels. Cette microalgue contient 53% de protéines, 23% de glucides, 9% de lipides et 5% de minéraux et d'oligoéléments (Costa et al., 2013).

Généralement, les cellules de *Chlorella* sont sphériques ou ellipsoïdales et la taille des cellules peut varier de 2 à 15 µm de diamètre. Ils sont largement distribués dans diverses habitudes telles que l'eau douce, l'eau de mer, le sol et sont même symbiotiques avec les

lichens et les protozoaires. La chlorelle n'a pas de cycle de vie sexuelle et se reproduit par la production d'autospores asexuées. À maturité, les autospores sont simultanément libérées par rupture de la paroi cellulaire mère. Le nombre d'autospores dérivées d'une seule cellule mère peut varier considérablement de 2 à 16 (Posten et Feng, 2016).

IV.5.- Etudes des polysaccharides microalgal

IV.5.1.- Test de la production d'EPS par la coloration à l'encre de chine

Les résultats que nous avons obtenus après la coloration des espèces microalgal avec l'encre de chine sont résumés dans les photos ci-dessous.



Figure26 : Présence de mucilage chez espèce *Chlorella sp.*

IV.6.- Activités antihyperglycémiantes de l'extrait polysaccharidique du *Chlorella sp.*

La **figure 27** présente les pourcentages d'inhibition (%) de l'activité enzymatique de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose ou de l'extrait polysaccharidique.

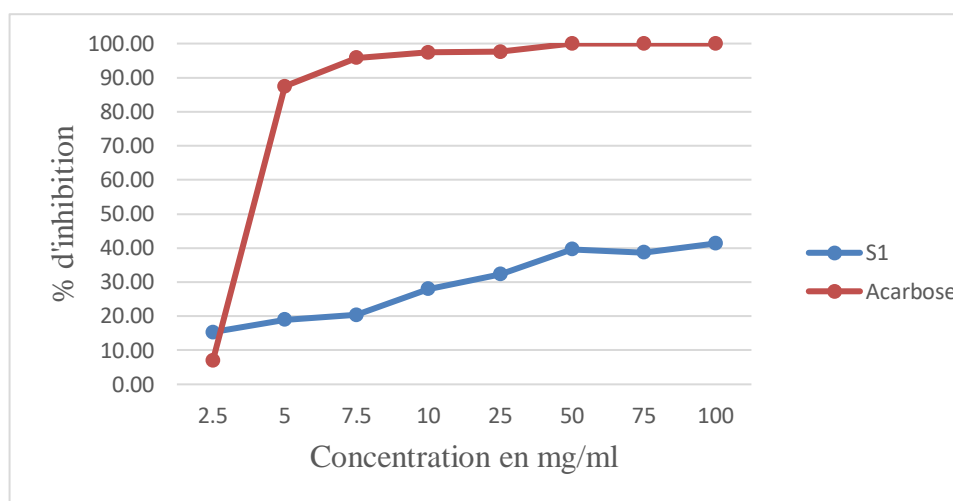


Figure 27 : Pourcentages d'inhibition (%) de l' α -D-glucosidase en présence de l'acarbose ou de l'extrait polysaccharidique.

On a remarqué que l'extrait brut de polysaccharide issu de *Chlorella sp.*, a un pouvoir inhibiteur plus au moins faible vis-à-vis l' α -D-glucosidase. Le pourcentage d'inhibition des polysaccharides est de 41,33% pour une concentration maximale de 100 mg/ml et de 15,33% pour une concentration minimale de 2,5 mg/ml. Tandis que l'acarbose a un fort pouvoir inhibiteur. Cette inhibition est de 100% à partir de la concentration 50 mg/ml. Il est remarqué que pour l'acarbose et l'extrait des polysaccharides les pourcentages d'inhibitions augmentent proportionnellement avec l'augmentation des concentrations.

Selon les résultats obtenus, il est constaté que *Chlorella sp.* a un effet plus au moins important sur l'activité enzymatique de l'enzyme α -D-glucosidase. C'est peut-être dû au fait que les molécules responsables de l'activité antidiabétique ne sont pas de nature purement glucidique ou que les molécules polysaccharidiques en question sont inactifs au cours des différentes étapes expérimentales tels que la durée d'incubation, le pH, la température, etc. De même le type de polysaccharides à étudier et leur pureté (La présence des groupes substitutifs).

Les microalgues sont connues comme des inhibiteurs d' α -D-glucosidase. La présence des polysaccharides dans l'espèce de *Spirulina* pourrait aider à réguler le taux de sucre dans le sang. Plusieurs études ont montré que les polysaccharides de *Spirulina sp.* a une capacité

d'inhibition de l'enzyme α -D glucosidase, l'effet est dose-dépendant. Les polysaccharides issus de *Spirulina sp.* a montré un pourcentage d'inhibition de l'enzyme α -D-glucosidase élevé. La concentration inhibitrice médiane de 50 $\mu\text{g/ml}$ (IC_{50}) est de 28.7%. Tandis que l'acarbose a donné une inhibition très élevée de 35% à une concentration faible de 10 $\mu\text{g/ml}$ (Okaechukwu *et al.*, 2018).

L'étude de l'effet inhibiteur des polysaccharides sur l' α -D-glucosidase est l'une des méthodes et paramètres d'élucider l'activité anti diabétique. Il est souhaitable donc de continuer les études sur l'activité anti diabétique mais avec les autres voies métaboliques et hormonales pour confirmer ou infirmer l'activité anti diabétique de *Chlorella sp.*

Conclusion

Conclusion

Ce travail focalisé sur l'investigation de la présence des souches microalgales productrices des EPS isolés dans un milieu dont les conditions sont extrêmes.

Le lieu d'étude est chott-Ain El Beida Ouargla qui caractérise par des eaux salée.

Les résultats ont montré la présence de souche de *chlorella sp* productrice des EPS. Ces EPS ont été testées comme des inhibiteurs d'alpha-D glucosidase.

Les analyses physicochimiques de l'eau du Chott Ain El Beida ont montré que cette dernière est qualifiée neutre et extrêmement salée, avec un pH de l'ordre de 6,5 à une température de 11,8 °C, favorable pour le développement de plusieurs espèces des microalgues et à une conductivité électrique estimée à 72,10 mS/ cm. A la fin de ce travail nous avons obtenus plusieurs résultats importants :

- L'isolement réalisé par la technique de dilution en série et le repiquage successif nous ont permis d'avoir seule espèces mis en culture pure.
- L'identification morphologique faite aux microscopes optique a révélé que les isolats correspondent plusieurs espèces : procaryote et eucaryote. Dans notre étude en sélectionne l'espèce de *Chlorella sp.*,

En fait la coloration par l'encre de chine pour confirmé que cette espèce est productrice les exopolysaccharides (présence de mucilage).

- L'activité antidiabétique basée sur la mesure de pouvoir inhibitrice de l'enzyme α -D-glucosidase. L'extrait polysaccharidique de *Chlorella sp.*, utilisé pour teste l'activité antidiabétique in vitro.
- Les résultats obtenu indique que l'extrait polysaccharidique de *Chlorella sp.*, à un pouvoir inhibitrice de l'enzyme α -D-glucosidase relativement important.

Notre travail reste préliminaire et vu son originalité, il serait intéressant de poursuivre par d'autre études sur :

- La biodiversité des microalgues dans l'espace et dans le saison.
- La biodiversité des EPS des microalgues.
- L'amélioration des conditions de production de ces EPS.
- Le développement des méthodes d'extractions et de purifications des EPS microalgales.

Conclusion

- Développé les testes et les techniques pour déterminer la composition et la structure des exopolysaccharides extraits.
- L'évaluation des autres activités biologiques, anti-inflammatoire, anticoagulante anticancéreuse ...

*Références bibliographiques
et électroniques*

1. Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A. A., & Ibraheem, I. B. M. (2012). Microalgae and waste water treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 19(3), 257-275.
2. Aboal M, Marco S, Chaves E, Mulero I, Garcia-Ayala A., 2012 .Ultra structure and function of stalks of the diatom *Didymosphenia geminata*. *Hydrobiologia* 695:17–24.
3. Allard, B.; Guillot, J.P., Casadeval, E.(1987).The production of extracellular polysaccharides by fresh-water microalgae. Investigation of the polysaccharide components. In : Biomass for Energy and Industry; Grassi, G., Delmon, B., Molle, J.F., Zibetta, H., Eds.; Elsevier Applied Science: London, UK, pp. 603–607.
4. Allard, B.; Casadeval, E.(1990) Carbohydrate composition and characterization of sugars from the green alga *Botryococcus braunii*. *Phytochemistry*, 29, 1875–1878.
5. Andersen, R.A., 2005. Algal Culturing Techniques. Elsevier/Academic Press.
6. Andersen, R.A., Kawachi, M., 2005. Traditional microalgae isolation techniques. In: Andersen, R.A. (Ed.), Algal Culturing Techniques. Elsevier, Amsterdam, pp. 83-100.
7. Aslan, S., Kapdan, I.K., 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae, *Ecological Engineering*, 28, pp. 64-70.
8. Bae, S. Y., Yim, J. H., Lee, H. K., & Pyo, S. (2006). Activation of murine peritoneal macrophages by sulfated exopolysaccharide from marine microalgae *Gyrodinium impudicum* (strain KG03): Involvement of the NF- κ B and JNK pathway. *International immunopharmacology*, 6(3), 473-484.
9. Banerjee A, Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC., 2002. *Botryococcus braunii*: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. *Crit Rev Biotechnology* 22(3):245–279.
10. Barberousse, Hélène., 2007. Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation. Diss. Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
11. Barsanti L, Gualtieri P., 2006. Algae Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology. LLC. Taylor & Francis. 320p.

Références bibliographique et Electroniques

12. Beijerinck, M. W. (1890). Culture rsuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. *Bot. Zeitung* 48:725–39, 741–54, 757–68, 781–85.
13. Beijerinck, M. W. (1893). Bericht über meine Kulturen niederer Algen auf Nährgelatine. *Zentralbl. Bakt.*
14. Beijerinck, M. W. (1901). Über oligonitrophile Mikroben. *Zentralbl. Bakt. Ser. II.*,(7).
15. Beijerinck, M. W. (1904). Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen. *Rec. Trav. Bt. Néerl* (1).
16. Bernal P, Llamas MA (2012) Promising biotechnological applications of antibiofilm exopolysaccharides. *Microb Biotechnol* 5(6):670–673.
17. 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.
18. Blancheton A., 1985. Production d'Algues unicellulaires. Rapport Ifremer. PAL Guillard, R. R. (2005). Purification methods for Microalgae. *Algal culturing techniques*, 117.AVAS. p17.
19. Boeriu, C. G., Van Dam, J. E., van den Broek, L. A., (2017). Polysaccharides in human health care. *Natural Product Communications*, 12(6),821-830.
20. Bonnefond H, Charlotte Combe, Jean-Paul Cadoret, Antoine Sciandra, Olivier Bernard., 2019. Potentiel des microalgues. In : Stephanie Baumberger (ed). *Chimie verte et industries agroalimentaires - Vers une bioéconomie durable*, Lavoisier, A paraître. ffhal-02421830.
21. Borowitzka, M. A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. In *Progress in industrial microbiology* (vol. 35, pp. 313-321). Elsevier.
22. Camille D. (1998). *Microbiologie.90 heures de travaux pratiques*. Gaétan Morin Editeur. Paris pp. 53-59.
23. Campbell JA, Davies GJ, Bulone V, Henrissat B (1997). A classification of nucleotide-diphospho-sugar glycosyltransférases based on amino acid sequence similarities. *Biochem J* 326:929–942.
24. Cardozo, K.H.M et al., 2007. Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol., Part C: Toxicol. Pharmacol.* 146 (1-2), 60-78.

25. Chang Fa-chung., 2015. Carbohydrates: Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology (2nd edt). Intech Open. p 489
26. Changjuan Zang, Suiliang Huang Min Wu, Shenglan Du, Miklas Scholz, Feng Gao, Chao Lin, Yong Guo et Yu Dong., 2010. Comparison of Relationships Between pH, Dissolved Oxygen and Chlorophyll a for Aquaculture and Non-aquaculture Waters. Springer.
27. Chen R., Meng F., Liu Z., Chen R., et Zhang M., 2010. Antitumor activities of different fractions of polysaccharide purified from *Ornithogalumcaudatum*Ait. Carbohydrate Polymers, vol.80: 845–851.
28. Chen, C.-S.; Anaya, J.M.; Zhang, S.; Spurgin, J.; Chuang, C.-Y.; Xu, C.; Miao, A.-J.; Chen, E.Y.-T.; Schwehr, K.A.; Jiang, Y.; et al. (2011). Effects of engineered nanoparticles on the assembly of exopolymeric substances from phytoplankton.
30. Chisti, Y., 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnol. Adv. 25 (3).
31. Chouana Toufik., 2017. Caractérisation structurale et activités biologiques des polysaccharides d'*Astragalus gombo bunge*. Biologie végétale. Université Clermont Auvergne, Français. ffNNT : 2017CLFAC112ff. fftel-02414068.
32. Costa, J.A.V., Linde, G.A., Atala, D.I.P., 2000. Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16, pp.15–8.
33. Costa J. A. C. et Morais M. G., 2013. “Microalgae for food production,” in Fermentation Process Engineering in the Food Industry, C. R. Soccol, A. Pandey, et C. Larroche, Eds., p. 486, Taylor & Francis.
34. Coutinho PM, Deleury E, Davies GJ, Henrissat B (2003). An evolving hierarchical family classification for glycosyltransférases. J Mol Biol 328:307–317.
35. Damonte, E.B., Matulewicz, M.C., Cerezo, A.S., 2004. Sulfated seaweed polysaccharides as antiviral agents. Current medicinal chemistry 11(18), 2399-2419.
36. Damtew Etisa, Roman Nega, Woinshet Lule., 2018. Some Application of Microalgae in Sewage Treatment, there Availability and Sampling Protocol up to Conservation with Factor Encounter. Ethiopian Biodiversity Institute, Ethiopia.

37. Daniel GF, Chamberlain AHL, Jones EBG., 1987. Cytochemical and electron microscopical observations on the adhesive materials of marine fouling diatoms. *Br Phycol J* 22:101–118.
39. Dayananda, C., et al. "Autotrophic cultivation of *Botryococcus braunii* for the production of hydrocarbons and exopolysaccharides in various media." *Biomass and Bioenergy* 31.1 (2007):p 87.
40. De Morais, M.G., Costa, J.A.V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, 129, pp. 439–45. 2007a.
41. De Morais, M.G., Costa, J.A.V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina sp.* cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnology Letters*, 29, pp. 1349–52. 2007b.
42. De Morais, M.G., Costa, J.A.V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energy Conversion and Management*, 48, pp. 2169–73. 2007c.
43. De Philippis R, Vincenzini M ., 1998. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. *FEMS Microbiol Rev* 22:151–175.
44. De Philippis R, Margheri MC, Materassi R, Vincenzini M (1998) Potential of unicellular cyanobacteria from saline environments as exopolysaccharide producers. *Appl Environ Microbiol*64:1130–1132.
45. De Philippis R, Colica G, Micheletti E (2011). Exopolysaccharide producing cyanobacterial in heavy metal removal from water: molecular basis and practical applicability of the biosorption process. *ppl Microbiol Biotechnology* 92:697–708.
46. Decho AW., 1990. Exopolymer microenvironments of microbial flora: multiple and interactive effects on trophic relationships. *Limnol Oceanogr* 38(8):1633–1645.
47. Delattre C, Guillaume Pierre, C.Laroche, Philippe Michaud., 2016. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides, *Biotechnology Advances* (2016), doi:10.1016/j.biotechadv.2016.08.001.

48. Devi S.S & Sahoo Dinabandhu., 2015.In: D. Sahoo, J. Seckbach (eds.), *the Algae World*, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology 26, DOI 10.1007/978-94-017-7321-822.
49. Di Pippo F, Ellwood NTW, Gismondi A, Bruno L, Rossi F, Magni P, De Philippis R., 2013. Characterization of exopolysaccharides produced by seven biofilm-forming cyanobacterial strains for biotechnological applications. *J Appl Phycology* 25:1697–1708.
50. Domozych, D.S., 1999. Disruption of the Golgi apparatus and secretory mechanism in 1287 the desmid, *Closterium acerosum* by brefeldin A. *J. Experiment. Bot.* 337, 1323-1330.
51. Dubinsky, O.; Simon, B.; Karamanos, Y.; Geresh, S.; Barak, Z.; Arad, S.M. (1992). Composition of the cell wall polysaccharide produced by the unicellular red alga *Rhodella reticulata*. *Plant Physiol. Biochem.*, 30, 409–414.
52. Dumitriu, S. (Ed.). (2004). *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility*. CRC press.
53. Evans, L.V.; Callow, M.E.; Percival, E.; Fareed, V.S.(1974). Studies on the synthesis and composition of extracellular mucilage in the unicellular red alga *Rhodella*. *J. Cell Sci*,16, 1-21.
54. Faller H., 2011. Les applications et la toxicite des algues marines. These de docteur en pharmacies. Université de Limoges. 131p.
55. Fareed, V.S.; Percival, E (1977). The presence of rhamnose and 3-*O*-methylxylose in the extracellular mucilage from the red alga *Rhodella maculata*. *Carbohydr. Res*, 53, 276–277.
56. Filali Rayen., 2012. Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂. Autre. Supélec. Français. NNT: 2012SUPL0007. tel-00765421.
57. Ford, C.W.; Percival, E.(1965). The carbohydrates of *Phaeodactylum tricornutum*. Part I. Preliminary examination of the organism and characterization of low molecular weight material and of a glucan. *J. Chem. Soc*, 1298, 7035–7041.
58. Ford, C.W.; Percival, E.(1965). The carbohydrates of *Phaeodactylum tricornutum*. Part II. A sulphated glucuronomannan. *J. Chem. Soc*. 1299, 7042–7046.

59. Garcia, D.; Morales, E.; Dominguez, A.; Fábregas, J. (1996). Productividad mixotrófica del exopolisacárido sulfatado con la microalgae marina *Porphyridium cruentum*. In Comunicaciones del III Congreso Ibérico de Biotecnología—Biotec'96, Universidad de Valladolid: Valladolid, Spain, pp. 591–592.
60. Gaujous D., 1995. La pollution des milieux aquatiques: aide-mémoire. *Technique et documentation*. Lavoisier. Paris, p 220.
61. Geresh, S., Arad, S.M., Levy-Ontman, O., Zhang, W., Tekoah, Y., Glaser, R., 2009. Isolation and characterization of poly-and oligosaccharides from the red microalgae *Porphyridium* sp. *Carbohydrate research* 344(3), 343-349.
62. Ghosh, T., Chattopadhyay, K., Marschall, M., Karmakar, P., Mandal, P., Ray, B., 2009. Focus on antivirally active sulfated polysaccharides: from structure–activity analysis to clinical evaluation. *Glycobiology* 19(1).
63. Guillard, R. R., 2005. Purification Methods for Microalgae. *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press, pp: 117-132.
64. Guo, Qingbin, Lianzhong Ai, and Steve Cui., 2018. Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides. Springer.
65. Guzman S, Gato A, Lamela M, Freire-Garabal M, Calleja JM (2003) Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytother Res* 17:665–670.
66. Guzman-Murillo, M. A., & Ascencio, F., 2000. Anti-adhesive activity of sulphated exopolysaccharides of microalgae on attachment of red sore disease-associated bacteria and *Helicobacter pylori* to tissue culture cells. *Letters in applied Microbiology*, 30(6), 473-478.
67. Ha, T.J., Lee, J.H., Lee, M.H., *et al.*, 2012. Isolation and identification of phenolic compounds from the seeds of *Perilla Frutescens* (L) and their inhibitory activities against alpha-glucosidase and aldose reductase. Elsevier Ltd.
68. Hacini M et Zatout M., 2012. Evolution de la salinité des eaux du chott de Ain El Beida (Cuvette de Ouargla). Laboratoire de géologie du Sahara, Université Kasdi Merbah Ouargla, BP 511 Route de Ghardia Algérie.

69. Hade, A., 2002. *Nos lacs – les connaître pour mieux les protéger*. Éditions Fides, p 360.
70. Hanlon, A., Bellinger, B., Haynes, K., Xiao, G et al., 2006. Dynamics of extracellular polymeric substance (EPS) production and loss in an estuarine, diatom-dominated, microalgal biofilm over a tidal emersion-immersion period. *Limnology and oceanography* 51(1), 79-93.
71. Hasui, M.; Matsuda, M.; Okutani, K.; Shigeta, S. (1995). *In vitro* antiviral activities of sulphated polysaccharides from a marine microalgae (*Cochlodinium polykrikoides*) against human immunodeficiency virus and other enveloped virus. *Int. J. Biol. Macromol.*, 17, 293–297.
72. Hayashi, T.; Hayashi, K.; Maeda, M.; Kojima, I., 1996. Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga *Spirulina platensis*. *J. Nat. Prod*, 59, 83–87.
73. He Z., Liang F., Zhang Y., Pan Y., 2014.- Water-soluble polysaccharides from finger citron fruits (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*). *Carbohydrate Research*, Vol. 388: 100-104.
74. Hecker, N., Costa, L.T., Farinha, J.C. and Tomas Vives, P., 1996. Inventaire des zones humides Méditerranéennes: Collecte des données. Publication medwet/Wetlands International/Instituto da Conservação da Natureza, P: 99.
75. Herlina, Lindriati T., Praptiningsih Y., Suciani C. M., 2016.-Use of Crude Extract Water-Soluble Polysaccharides of Durian (*Durio zibethinus* Murr) Seeds as Stabilizer for Pineapple Juice Production. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, Vol.9:440- 449.
76. Ho, S-H., Chen, C-Y., Lee, D-J., Chang, J-S., 2010. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems — A review, *Biotechnology Advances*, Volume 29, Issue 2, pp. 189-198.
77. Hoagland, K.D., Rosowski, J.R., Gretz, M.R., Roemer, S.C., 1993. Diatom extracellular polymeric substances: function, fine structure, chemistry, and physiology. *Journal of Phycology* 29(5), 537-566.

78. Hong, G., Huang, Y. N., Gao, B., & Kawabata, J., 2008. Chebulagic acid is a potent α -glucosidase inhibitor. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 72(2), 601-603.
79. Huang, J.; Chen, B.; You, W.(2005). Studies on separation of extracellular polysaccharide from *Porphyridium cruentum* and its anti-HBV activity in vitro. *Chin. J. Mar. Drugs (Chin.)*, 24, 18–21
81. Jin, D-Q. G. Li, J.-S. Kim, C.-S. Yong, J.-A. Kim, and K. Huh, “Preventive effects of *Laminaria japonica* aqueous extract on the oxidative stress and xanthine oxidase activity in streptozotocin-induced diabetic rat liver,” *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 27, no. 7, pp. 1037–1040, 2004.
82. Kaji, T.; Okabe, M.; Shimada, S.; Yamamoto, C.; Fujiwara, Y.; Lee, J.-B.; Hayashi, T. Sodium spirulan as a potent inhibitor of arterial smooth muscle cell proliferation *in vitro*. *Life Sci*. 2004, 74, 1–9.
83. Keidan, M., Broshy, H., van Moppes, D., Arad Malis, S., 2006. Sulphur assimilation into the cell-wall polysaccharide of the red microalgae *Porphyridium* sp. (Rhodophyta). *Phycologia*46, 505-511.
84. Kim, Se-Kwon., 2015. Hand book of marine microalgae: Biotechnology advances .Academic Press. pp (3-56).
85. Kim S.K., Venkatesan J., Manivasagan P., 2015. Marine Microalgae Biotechnology: Present Trends and Future Advances. In: Se-Kwon Kim (Ed), Handbook of Marine Microalgae- biotechnology advances. Academic Press. pp.1-9.
86. Kornprobst J.M, 2005. Substances naturelles d’origine marine. 2 volumes TEC & DOC/Lavoisier (Eds). 1-1800.
87. Kumar, C. S., Ganesan, P., Bhaskar, N. (2008a). In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107(2), 707-713.
88. Kumar V, in: Naithani S., V.K. Varshney, V. Kumar, P.K. Gupta, R. Rashmi, Kumar (Eds.), Proceedings of the National Conference on Natural Products and Biodiversity: Chemistry and Utilization from November 2–3, 2006, Dehradun, India, 2009, pp. 117–123.

89. Lardiere Garon, S., 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (*Bonnemaisoniales*). Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale.
90. Lee, R. E. (2018). *Phycology*. Cambridge University Press.
91. Lee, J.-B.; Hayashi, T.; Hayashi, K.; Sankawa, U. (2000). Structural analysis of calcium Spirulan (Ca-SP)-derived oligosaccharides using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Nat. Prod.* 2000, 63, 136–138.
92. Leclerc, V., Floc'h, J.Y., 2010. « Les secrets des Algues ».Éditions Quae. p.115-118.
93. Lengyel, Dr. Nóra Kováts, Prof. Dr. Judit Padisák. (2012). Part II. Algal Isolation and Culturing Techniques. University of Pannonia ; Department of Limnology .TÁMOP-4.1.1.C-12/1/KONV-2012-0015 Higher educational cooperation for the water sector.
94. Li P, Harding SE, Liu Z. (2001a). Cyanobacterial exopolysaccharides: their nature and potential biotechnological applications. *Gen Eng Rev* 18:375–404.
95. Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C.Q., Dubois-Calero, N., 2008. Biofuels from microalgae *Biotechnol. Prog.* 24 (4), 815-820.
96. Liu C, Sun H, Zhu L. (2006). Effects of salinity formed with two inorganic salts on freshwater algae growth. *Acta Scientiae Circumstantiae* 26(1): 157-161.
97. Lombardi, A., Hidalgo, T., Vieira, A., 2005. Copper complexing properties of dissolved organic materials exuded by the freshwater microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Chlorophyceae). *Chemosphere* 60(4), 453-459.
98. Lupi FM, Fernandes HML, Sá -Correia I, Novais JM. (1991) Temperature profiles of cellular growth and exopolysaccharide synthesis by *Botryococcus braunii* Kütz. *UC 58. J Appl Phycol* 3:35–42.
99. Mahajan, G., Kamat, M. (1995). γ -Linolenic acid production from *Spirulina platensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(3), 466-469.
100. Magaletti, E., Urbani, R., Sist, P., Ferrari, C.R., Cicero, A.M., 2004. Abundance and chemical characterization of extracellular carbohydrates released by the marine diatom

Cylindrotheca fusiformis under N-and P-limitation. European Journal of Phycology 39(2), 133-142.

101. Maiti S et Jana S., 2019. Polysaccharide Carriers for Drug Delivery. Woodhead Publishing Series in Biomaterials.p:2.20.

102. Maji, B., 2019.Introduction to natural polysaccharides. In: Maiti.,S et Jana.,S (eds). Functional Polysaccharides for Biomedical Applications. Elsevier Ltd .p.1-13.

103. Martha S et Chrousos .M.D., 2009. In: Katzung B.G., Master S.B., A.J. Trevor (Eds.), Basic and Clinical Pharmacology, eleventh ed., McGraw-Hill Companies, Inc., New York.

104. Martinez, M. J. A., Del Olmo, L. M. B., & Benito, P. B. (2005). Antiviral activities of polysaccharides from natural sources. In *Studies in natural products chemistry*. Elsevier.Vol. 30, pp. 393-418.

105. Matsui, S.M.; Muizzudin, N.; Arad, S.M.; Marenus, K., 2003.Sulfated polysaccharides from red microalgae anti-inflammatory properties *in vitro* and *in vivo*. Appl. Biochem. Biotechnol 104, 13-22.

106. Miao, X., Wu, Q., Yang, C., 2004. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. J. Anal. Appl. Pyrolysis 71 (2), 855-863.

107. Mishra S.B, C.V. Rao, Ojha S.K, Vijayakumar M, Verma A., 2010. International Journal Pharmaceutical Sciences and Research (1) 29–38.

108. Mishra, A.; Kavita, K.; Jha, B. (2011), Characterization of extracellular polymeric substances produced by micro-algae *Dunaliella salina*. Carbohydr. Polym. 83, 852–857.

109. Moore, B., Tischer, R., 1964. Extracellular polysaccharides of algae: effects on life-support systems. Science 145(3632), 586-587.

110. Munoz, R. and Guieysse, B. (2006) Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review. Water Res. 40, 2799– 2815.

111. Murata, M. & Nakazoe, J. (2001). Production and use of marine algae in Japan. *Jarq-Japan Agricultural Research Quarterly*, 35(4), 281-290.

112. 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.
113. Nagaoka, M.; Shibata, H.; Kimura-Takagi, I.; Hashimoto, S.; Kimura, K.; Makino, T.; Aiyama, R.; Ueyama, S.; Yokokura, T.(1999).Structural study of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus* Tokida. *Glycoconj. J*,16, 19–26.
114. Ngo .D-H. and S.-K. Kim, “Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae,” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 62, pp. 70–75, 2013.
115. Norton, T.A., Melkonian, M., Andersen, R.A., 1996. Algal biodiversity. *Phycologia* 35 (4), 308-326.
116. Ofek, L., Beachey, E. H., & Sharon, N. (1978). Surface sugars of animal cells as determinants of recognition in bacterial adherence. *Trends in Biochemical Sciences*, 3(3), 159-160. 39.
117. Ogawa, K.; Yamaura, M.; Maruyama, I. (1997) Isolation and identification of 2-*O*-methyl-L-rhamnose and 3-*O*-methyl-L-rhamnose as constituents of an acidic polysaccharide of *Chlorella vulgaris*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 61, 539–540
118. Paulsen B.S., 2000. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe at Sundoya, Norway from september13–16, 1998, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 1–156.
119. Penna, A.; Berluti, S.; Penna, N.; Magnani, M.(1999).Influence of nutrient ratios on the in vitro extracellular polysaccharide production by marine diatoms from Adriatic Sea. *J. Plankton Res.*,21, 1681–1690.
120. Pereira S, Zille A, Micheletti E, Moradas-Ferreira P, De Philippis R, Tamagnini P (2009). Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly. *FEMS Microbiol Rev* 33:917–941.
121. Person, J., Lando, D., Mathieu, D. (2010). Livre turquoise: algues, filières du futur. *Édition AdebioTech., Romainville*. France. pp :3-56.

122. Person J., 2011. Algues, filières du futur. Edition : Adebitech. Romainville. France. pp :10-11-182.
123. Pignolet O., Jubeau S., Vaca-Garcia C., Michaud P. 2013. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 40(8) : 781-96.
124. Plaza M., Herrero M. A., Alejandro Cifuentes, et E. Ibañez, 2009. ~ “Innovative natural functional ingredients from microalgae,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no. 16, pp. 7159–7170.
126. Pletikapic, G.; Radic, T.M.; Zimmermann, A.H.; Svetlicic, V.; Pfannkuchen, M.; Maric, D.; Godrjan, J.; Zutic, V.(2011). AFM imaging of extracellular polymer release by marine diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reiman et JC Lewin. *J. Mol. Recogn*, 24, 436–445.
127. Posten Clemens et Feng Chen Steven., 2016. *Microalgae Biotechnology. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer International Publishing Switzerland .
128. Pugh N, Ross SA, ElSohly HN, ElSohly MA, Pasco DS (2001). Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon fl os-aquae* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta Med* 67:737–742.
129. Radonic, A.; Thulke, S.; Achenbach, J.; Kurth, A.; Vreemann, A.; König, T.; Walter, C.; Possinger, K.; Nitsche, A.(2010). Anionic polysaccharides from phototrophic microorganisms exhibit antiviral activities to *Vaccinia virus*. *J. Antivir. Antiretrovir*, 2, 51–55.
130. Raja, A., Vipin, C., Aiyappan, A., 2013. Biological importance of marine algaedan overview. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2 (5), 222-227.
131. Ramus J, Robins DM ., 1975. The correlation of Golgi activity and polysaccharide secretion in *Porphyridium*. *J Phycology* 11:70–74.
132. Raposo D. J.M.F., de Morais, A.M.M.B.; de Morais, R.M.S.C., 2013. Bioactivity and Applications of Sulphated Polysaccharides from Marine Microalgae. *Mar. Drugs* 2013, 11, 233-252; doi: 10.3390/md110102335 Activité biologiques.

133. Raposo D.M.F., de Morais, R.M.S.C.; de Morais, A.M.M.B. Marine Polysaccharides from Algae with Potential Biomedical Applications. *Mar. Drugs* 2015, *13*, 2967-3028;doi: 10.3390/md13052967.
134. Raposo D.J.M.F., de Morais, A.M.M.B.; de Morais, R.M.S.C., 2014. Bioactivity and Applications of polysaccharides from marine microalgae. In *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology*; Merillon, J.M., Ramawat, K.G., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2014; doi:10.1007/978-3-319-03751-6_47-1.
135. Richmond Amos, Yuan-Kun Lee , Hui Shen, 2004. Basic culturing techniques. In A. Richmond (ed), *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing Ltd.
136. Rincé, Y.; Lebeau, T.; Robert, J.M.(1999).Artificial cell-immobilization: A model simulating immobilization in natural environments? *J. Appl. Phycol.*,*11*, 263–272.
137. Rocha, H.A.O.; Franco, C.R.C.; Trindade, E.S.; Veiga, S.S.; Leite, E.L.; Dietrich, C.P.; Nader, H.B., 2005. Fucan inhibits Chinese hamster ovary cell (CHO) adhesion to fibronectin by binding to the extracellular matrix. *Planta Med*, *71*, 628–633.
138. Rodier, Jean, and Bernard Legube. *L'analyse de l'eau*. Dunod, 2009.
139. Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., & Tredici, M. R. (2009). Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and bioengineering*, *102*(1), 100-112.
140. Rossi Federico et De Philippis Roberto., 2016. Exocellular Polysaccharides in Microalgae and Cyanobacteria: Chemical Features, Role and Enzymes and Genes Involved in Their Biosynthesis. Springer International Publishing Switzerland 2016. M.A. Borowitzka et al. (eds), *The Physiology of Microalgae*, *Developments in Applied Phycology* 6, doi 10.1007/978-3-319-24945-2_21.
141. Ruiz Gaël., 2005. Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algues Rouges. Doctoral dissertation. Limoges. pp. 9.
142. Salhi Abdelkader., 2017. Transformations spatiales et dynamiques socio-environnementales de l'oasis de Ouargla (Sahara algérien). Une analyse des perspectives de

développement. Thèse de Doctorat en Géographie. Géographie. Aix-Marseille Université. Français. tel-02279906.

143. Sawada, Y., Tsuno, T., Ueki, T., Yamamoto, H., Fukagawa, Y., and Oki, T. 1993. Pradimicin Q, a new pradimicin aglycone, with alpha-glucosidase inhibitory activity. J. Antibiot. (Tokyo), 46: 507–510. PMID:8478269.

144. Senni, K.; Pereira, J.; Gueniche, F.; Delbarre-Ladrat, C.; Sinquin, C.; Ratiskol, J.; Godeau, G.; Fisher, A.M.; Helley, D.; Collicec-Jouault, S. (2011). Marine polysaccharides: A source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. Mar. Drugs,9, 1664–1681.

145. Sialve, B., Steyer, J.P., 2013. Les microalgues, promesses et défis. Innovations Agronomique: vol. 26(25-39).pp.26.

146. Singh, S., Arad, S.M., Richmond, A., 2000. Extracellular polysaccharide production in outdoor mass cultures of *Porphyridium* sp. in flat plate glass reactors. Journal of applied Phycology 12(3-5), 269-275.

147. Singh Poonam, Sanjay Kumar Gupta, Abhishek Guldhe, Ismail Rawat, Faizal Bux. (2015). Ch: Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques. Institute for Water and Wastewater Technology, Durban University of Technology, Durban, South Afric.

148. Staats, N.; de Winder, B.; Stal, L.J.; Mur, L.R.(1999). Isolation and characterization of extracellular polysaccharides from the epipellic diatoms *Cylindrotheca closterium* and *Navicula salinarum*. Eur. J. Phycol. 34, 161–169.

149. Stolz, P., Obermayer, B., 2005. Manufacturing microalgae for skin care. Cosmet. Toiletries 120 (3), 99-106.

150. Talyshinsky, M.M.; Souprun, Y.Y.; Huleihel, M.M.(2002). Antiviral activity of red microalgal polysaccharides against retroviruses. Cancer Cell Int, 2, 8-14.

151. Tanzi., 2013.Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

152. Underwood, G.J., Boulcott, M., Raines, C.A., Waldron, K., 2004. Environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms: dynamics, changes in composition, and pathways of production. *Journal of Phycology* 40(2), 293-304.
153. Urbani, R., Pletikapić, G., Sist, P., Radić, T.M., Žutic, V., Svetličić, V., 2012. Diatom polysaccharides: Extracellular production, isolation and molecular characterization. In: Karunaratn, D.N. (Ed.), *The complex world of polysaccharide*. Intech, Rijeka, pp. 345-370. DOI:10.5772/51251.
154. Venugopal, V. "Polysaccharide from seaweed and microalgae." *Marine Polysaccharides: Food Applications*; Zollo, S., Ed.; Taylor and Francis Group: Boca Raton, FL, USA (2011): 111-122.
155. 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).
156. Wang Y, Lu J, Mollet J-C, Gretz MR, Hoagland KD., 1997 . Extracellular matrix assembly in diatoms (Bacillariophyceae). 11. 2,6-Dichlorobenzonitrile inhibition of motility 2,6-Dichlorobenzonitrile inhibition of motility and stalk production in the marine diatom *Achnanthes longipes*. In the marine diatom *Achnanthes longipes*. *Plant Physio* 113:1071–1080.
157. Watanabe, M. M. Freshwater Culture Media. in ANDERSEN,R.A(ed), 2005. *Algal Culturing Techniques* . Academic press. Elsevier. pp: 13-20.
158. Wijffels, R.H., Draaisma, R.B., Slegers, P.M., Brentner, L.B., Roy, A., Barbosa, M.J., 2013. Food commodities from microalgae. *Curr. Opin. Biotechnol.*
159. Wotton, RS., 2004. The ubiquity and many roles of exopolymers (EPS) in aquatic systems. *Sci Mar* 68:13–21.
160. Xiao Rui et Zheng Yi, 2016. Overview of Microalgal Extracellular Polymeric Substances (EPS) and Their Applications, *Biotechnology Advances* (2016), doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.08.004.

161. Yim, J. H., Kim, S. J., Ahn, S. H., Lee, C. K., Rhie, K. T., & Lee, H. K. (2004). Antiviral effects of sulfated exopolysaccharide from the marine microalgae *Gyrodinium impudicum* strain KG03. *Marine biotechnology*, 6(1), 17-25.
162. Yim, J.H.; Son, E.; Pyo, S.; Lee, H.K. (2005). Novel sulfated polysaccharide derived from red-tide microalgae *Gyrodinium impudicum* strain KG03 with immunostimulating activity *in vivo*. *Mar. Biotechnol*7, 331–338.
163. Yves R., 2008. biopolymères dynamiques : oligo et polysaccharides . Thèse de doctorat. Université louis pasteur de stars bourg.
164. Zatout, M., Hacini, M., Hamzaoui, A. H., & M'nif, A. (2017, November). Abnormal Behavior of Chott Ain Beida Brines, Ouargla Basin, Algerian Sahara. In Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (pp. 1047-1050). Springer, Cham.
165. Zeyons O. Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement. Physique [physics]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2008. Français. fftel-00331931.
166. Zhang D., I. Fujii, C. Lin et al., “The stimulatory activities of polysaccharide compounds derived from algae extracts on insulin secretion in vitro,” *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 31, no. 5, pp. 921–924, 2008.
167. Zhao, X.; Xue, C.H.; Li, B.F., 2008. Study of antioxidant activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *J. Appl. Phycol*, 20.
168. Zong A., Cao H., Wang, F. (2012). Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1395–1410.

Les sites internet:

1. <https://biologyreader.com/cyanobacteria.html>
2. <https://www.algothorm.com>
3. www.sciencephoto.com

Références bibliographique et Electroniques

4. <http://www.algaetec.com.au>

5. AlgaPARC.com

6. <https://www.federationdeslacs.ca>

Annexe

Annexe I : Tableaux des milieux

1) Composition de milieu F/2 (Anderson, 2005)

Elément	Solution de stock g/l d'H ₂ O pour 1L	Solution de stock g/l d'H ₂ O pour 200mL	Quantité utilisée Pour 1L	Concentration dans le milieu final
NaNO₃	75	15	1mL	$8,82 \cdot 10^{-4}$
NaH₂PO₄·H₂O	5	1	1mL	$3,62 \cdot 10^{-5}$
Na₂SiO₃·9H₂O	30	6	1mL	$1,06 \cdot 10^{-4}$
Solution d'éléments trace				
FeCl₃·6H₂O			3,15g	$1,17 \cdot 10^{-5}$
Na₂EDTA·2H₂O			4,36g	$1,17 \cdot 10^{-5}$
MnCl₂·4H₂O	180	36	1mL	$9,10 \cdot 10^{-7}$
ZnSO₄·7H₂O	22	4,4	1mL	$7,65 \cdot 10^{-8}$
CoCl₂·6H₂O	10	2	1mL	$4,20 \cdot 10^{-8}$
CuSO₄·5H₂O	9,8	1,96	1mL	$3,93 \cdot 10^{-8}$
Na₂MoO₄·2H₂O	6,3	1,26	1mL	$2,60 \cdot 10^{-8}$
Solution de vitamines			0,5mL	
Thiamine. HCl (vitamine B1)			200mg	$2,96 \cdot 10^{-7}$
Thiamine .HCl (vitamine B1)	1,0	0,2	1mL	$2,05 \cdot 10^{-9}$
Cyanocobalamin (vitamine B12)	1,0	0,2	1mL	$3,69 \cdot 10^{-10}$

2) Composition de milieu BBM (Anderson, 2005)

Elément	Solution de stokes g/l d' H ₂ O pour 1L	Solution de stock g/l d' H ₂ O pour 200ml	Quantité utilisée pour 1L	Concentration dans le milieu final
Macronutriments				
NaNO ₃	25	5,0	10mL	2,94. 10 ⁻²
CaCl ₂ .7H ₂ O	2,5	0,5	10mL	1,70. 10 ⁻⁴
MgSO ₄ . 7H ₂ O	7,00	1,4	10mL	3,04. 10 ⁻⁴
K ₂ HPO ₄	7,5	1,5	10mL	4,31. 10 ⁻⁴
KH ₂ PO ₄	17,5	3,5	10mL	1,29. 10 ⁻³
NaCl	2,50	0,5	10mL	4,28. 10 ⁻⁴
Solution alcaline d'EDTA			1mL	
EDTA	50,00	10,0		1,71. 10 ⁻⁴
KOH	31,00	6,2		5,53. 10 ⁻⁴
Solution acidifiée de fer			1mL	
FeSO ₄ . 7H ₂ O	4,98	0,996		1,79. 10 ⁻⁵
H ₂ SO ₄			1mL	
Solution de Bore			1mL	
H ₃ BO ₃	11,42	2,284		1,85. 10 ⁻⁴
Solution D'oligo-métaux			1mL	
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,82	1,764		3,07. 10 ⁻⁵
MnCl. 4H ₂ O	1,44	0,288		7,28. 10 ⁻⁶
MoO ₃	0,71	0,142		0,70. 10 ⁻⁶
CuSO ₄ . 5H ₂ O	1,57	0,314		6,29. 10 ⁻⁶
Co (NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0,49	0,098		1,86. 10 ⁻⁶

3) Composition de milieu ZARROUK modifié (Congne et al, 2003)

Elément	Quantité utilisée pour 1L	Quantité utilisée pour 200mL
NaCl	1,0g	0,2g
CaCl ₂	0,03g	0,006g
K ₂ SO ₄	1,0g	0,2g
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2g	0,04g
K ₂ HPO ₄	0,5g	0,1g
NaNO ₃	2,5g	0,5g
NaHCO ₃	10,5g	2,1g
Na ₂ CO ₃	7,6g	1,52g
EDTA	0,08g	0,016g
FeSO ₄ . 7H ₂ O	0,01g	0,002g
Eau distillée	qsp1000mL	
Solution d'éléments trace	1mL	
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,23g	0,046g
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,11g	0,022g
CuSO ₄ . 4H ₂ O	0,03g	0,006g
Eau distillée	qsp 1000mL	

4) Composition de milieu BG-11 Medium, Modified (Allen 1968, Allen and Stanier 1968, Rippka et al.1979)

Elément	Solution de stock g/l d'H₂O pour 1L	Solution de stock g/l d'H₂O pour 200mL	Quantité utilisée pour 1L	Concentration dans le milieu final
Fe solution de citrate			1mL	
Acide citrique	6	1,2	1ml	$3,12 \cdot 10^{-5}$
Citrate d'ammonium ferrique	6	1,2	1ml	$3 \cdot 10^{-5}$
NaNO₃			1,5mg	$1,76 \cdot 10^{-2}$
K₂HPO₄ · 3H₂O	40	8	1mL	$1,75 \cdot 10^{-4}$
MgSO₄ · 7H₂O	75	15	1mL	$3,04 \cdot 10^{-4}$
CaCl₂ · 2H₂O	36	7,2	1mL	$2,45 \cdot 10^{-4}$
Na₂CO₃	20	4	1mL	$1,89 \cdot 10^{-4}$
MgNa₂EDTA · H₂O	1,0	0,2	1mL	$2,79 \cdot 10^{-6}$
Solution d'éléments trace			1mL	
H₃BO₃			2,860g	$4,63 \cdot 10^{-5}$
MnCl₂ · 4H₂O			1,810g	$9,15 \cdot 10^{-6}$
ZnSO₄ · 7H₂O			0,220g	$7,65 \cdot 10^{-7}$
CuSO₄ · 5H₂O	79,0	15,8	1mL	$3,16 \cdot 10^{-7}$
Na₂MoO₄ · 2H₂O			0,391g	$1,61 \cdot 10^{-6}$
Co(NO₃)₂ · 6H₂O	49,4	9,88	1mL	$1,70 \cdot 10^{-7}$

Annexe II : Tests de sélection



Coloration à l'encre de chine

Annexe III : Différentes appareils utiliser



Balance de précision



Spectrophotomètre UV visible



Centrifugeuse



Microscope optique équipé par caméra et ordinateur



Four pasteur



Phytotron



Multi paramètre



pH-mètre



Vortex



L'autoclave



Plaque chauffente



Bain Marie

Résumé

Isolement des souches microalgales productrices des polysaccharides du Sahara Algérien

L'objectif de cette étude est l'isolement et l'identification des microalgues productrices d'exopolysaccharides à partir du chott Aïn El-Beïda dans la wilaya d'Ouargla., ainsi que l'extraction de ces exopolysaccharides et l'évaluation de leurs activités antidiabétiques. L'analyse physicochimique des échantillons d'eau du chott Aïn El-Beïda a montré que cette dernière est qualifiée neutre et extrêmement salée. L'isolement par méthode de dilution, nous a permis de purifier seule espèce appartenant aux Chlorophyceae (microalgues vertes) : *Chlorella sp.*

La sélection des espèces productrices d'EPS a été effectuée généralement par un examen microscopique après coloration à l'encre de Chine suivi par un test colorimétrique pour confirmer la détection.

L'activité antidiabétique des extraits exopolysaccharidiques issus de *Chlorella sp* a été également évaluée in vitro en utilisant le test de l'activité anti diabétique basé sur la mesure de pouvoir inhibitrice de l'enzyme α -D-glucosidase.

Les résultats indiquent que l'extrait polysaccharidique issu de *Chlorella sp* (microalgues vertes) est doté d'une activité antidiabétique relativement importante.

Mots clés: Chott Aïn El-Beïda, *Chlorella sp*, Microalgues, Exopolysaccharides, Activité antidiabétique.

Summary

Isolation of microalgal strains producing polysaccharides from the Algerian Sahara

The objective of this study is the isolation and identification of microalgae producing exopolysaccharides from the Chott Aïn El-Beïda in the wilaya of Ouargla, as well as the extraction of these exopolysaccharides and the evaluation of their activity antidiabetic. Physicochemical analysis of water samples from Chott Aïn El-Beïda showed that the latter is qualified as neutral and extremely salty. Isolation by dilution method allowed us to purify only one species belonging to Chlorophyceae (green microalgae): *Chlorella sp.*

Selection of EPS-producing species was generally carried out by microscopic examination after staining with Chinese ink followed by a colorimetric test to confirm detection.

The anti-diabetic activity of the exopolysaccharide extracts from *Chlorella sp* was also evaluated in vitro using the anti-diabetic activity test based on the measurement of the inhibitory power of the α -D-glucosidase enzyme.

The results indicate that the polysaccharide extract from *Chlorella sp* (green microalgae) has relatively significant anti-diabetic activity.

Keywords: Chott Aïn El-Beïda, *Chlorella sp*, Microalgae, Exopolysaccharides, Anti-diabetic activity.

ملخص

عزل سلالات الطحالب الدقيقة المنتجة للسكريات من الصحراء الجزائرية

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد الطحالب الدقيقة المنتجة للسكريات الخارجية من شطر عين البيضاء بولاية ورقلة كذلك استخراج هذه السكريات الخارجية وتقييم نشاطها مضاد لمرض السكر. أظهر التحليل الفيزيائي والكيميائي لعينات المياه من شطر عين البيضاء أن الأخيرة مؤهلة على أنها محايدة ومالحة للغاية. سمح لنا العزل بطريقة التخفيف بتنقية نوع واحد فقط ينتمي إلى Chlorophyceae (الطحالب الدقيقة الخضراء) : *Chlorella sp*

تم اختيار الأنواع المنتجة لـ EPS بشكل عام عن طريق الفحص المجهرى بعد التلوين بالبحر الصيني يليه اختبار القياس اللوني الكيميائي لتأكيد الاكتشاف.

تم أيضاً تقييم النشاط المضاد لمرض السكري لمستخلصات عديدات السكريات الخارجية من *Chlorella sp* في المختبر باستخدام اختبار النشاط المضاد لمرض السكري بناءً على قياس القوة المثبطة لإنزيم (α -D-glucosidase).

تشير النتائج إلى أن مستخلص عديد السكريات من *Chlorella sp* (الطحالب الدقيقة الخضراء) له نشاط نسبياً مهم ضد مرض السكري.

الكلمات المفتاحية: شطر عين البيضاء ، كلوريل ، طحالب دقيقة ، عديدات السكريات الخارجية ، نشاط مضاد لمرض السكري.

