

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun, Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master académique

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biotechnologie**

Spécialité : **Biotechnologie microbienne**

Présenté par :

- Regg Rima
- Horri Ines Hakima
- Hati Soumiya

Thème

**Caractérisation des Microalgues des Eaux Douces,
Récoltées des Barrages de la Wilaya de Tiaret.**

Soutenu le **28/09/2020**, devant le jury composé de :

Présidente	: Dr. Boubekour Badra	M.C.B	Université de Tiaret
Examinatrice	: Dr. Mezouer Djamila	M.C.B	Université de Tiaret
Encadrant	: Dr. Ali-Nehari Abdelkader	M.C.A	Université de Tiaret

Année Universitaire 2019-2020

Dédicaces

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre... À cette source de tendresse, de patience et de générosité... À ma mère !

A mon père, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mes parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

À ma sœur Haloma et à mes deux frères Mohamed, Kadi, ma tante Saliha et mes cousins Fatima et Achraf qui ont toujours été à mes cotés, et à toute la famille Horri et kasser .

A ma deuxième famille avec qui j'ai vécu mes plus beaux moments ainsi que les pires, mes adorables sœur que ma mère n'a pas accoucher Rania, Alia, jijika et Amel .

À mon binôme Soumiya et trinôme Rima, pour son soutien et sa patience.

À tous mes amis et collègues de club scientifique et de la promotion du master Biotechnologie Microbienne (2019/2020).

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

Ines

Dédicaces

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre... À cette source de tendresse, de patience et de générosité... À ma mère !

A mon père, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mes parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

À mes chères sœurs : « Hanane », « Naima », « Zineb », « Narimane », « Wissal », « Samah ». À mes nièces : « Assil », « Dima ». qui ont toujours été à mes côtés, et à toute la famille HATI et AYED .

À mes très chères amis : « Rania », « Alia », « Nadia », jijika , « Chemseddine », « kamel ».

À mon binôme Ines et trinôme Rima, pour son soutien et sa patience.

À tous mes amis et collègues de club scientifique et de la promotion du master Biotechnologie Microbienne (2019/2020).

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

Soumiya

Dédicaces

À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre... À cette source de tendresse, de patience et de générosité... À ma mère !

A mon père, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Mes parents, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A la mémoire de mes grands parents.

A mes très chères sœurs : Hanan, Safa, Waime, Anfel et au soleil de notre maison Soundos et A mon cher frère HOUCINE, Pour leur affection. Que dieu leur accorde le succès, le bonheur et la santé et renforce notre union familiale.

A toute la famille REGG

A mes chères amis : Leila, Ikram ,Wissam ,Hanan, Hayat, Kadi

A mon binôme Ines et trinôme Soumia, pour son soutien et sa patience.

A mes amis et mes collègues de la promotion du master Biotechnologie Microbienne (2019/2020).

A toutes les personnes que j'aime.

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

Rima

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous Avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de Finaliser ce travail.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement

Mr Ali Nehari Abdelkader maitre- de conférences à l'université Ibn Khaldoun Tiaret qui nous a fait Confiance et nous a permis de bénéficier de son encadrement, de nous avoir

encouragé, orienté, conseillé et aidé, nous le remercions vivement pour sa

disponibilité, sa patience et sa grande générosité, tout le long de notre travail,

*Nos chaleureux remerciements vont aux **Dr. Boubekour B.** et*

Dr. Mezouer pour l'honneur d'accepter de juger notre travail,

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont Participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

ملخص

تتجلى أهمية الطحالب الدقيقة من خلال تنوع تركيباتها الكيميائية الحيوية ، فقد جذبت الكثير من الاهتمام كمصدر محتمل للمركبات الجديدة النشطة بيولوجيًا. مما جعلها واعدة بالنسبة للعديد من التطبيقات في مختلف المجالات. الهدف من هذه الدراسة هو دراسة تركيبة الطحالب الدقيقة التي تم جمعها من المياه السطحية لسد بخدة الواقع بولاية تيارت. فضلا عن محاولة المساهمة في تثمين مختلف منافعها المحتملة. بعد تحضير المادة الجافة بواسطة التجميد، تمت دراستها عن طريق تحديد التركيب الكيميائي الحيوي. حيث تم أيضا اختبار المستخلصات التي تم الحصول عليها لاحقًا من حيث فاعلية مضادات الأكسدة ومضادات السرطان. أظهرت نتائج التركيب الكيميائي الحيوي وجود مستوى رطوبة قدر ب $1.86 \pm 0.19\%$. تحتوي على نسبة رماد 9.31 ± 0.22 ؛ محتوى دهني 12.95 غ / 100 غ ؛ محتوى بروتيني يبلغ 43.5 ± 0.18 غ / 100 غ ومستوى كربوهيدرات في حدود $13.47 \pm 0.31\%$. بالنسبة لنتائج استخلاص المادة الجافة من الطحالب الدقيقة، لوحظ أن أعلى مردود تم تسجيله في المستخلص المائي (18.87% غ / غ) ، في حين ، كانت أقل القيم تلك المتعلقة بمستخلص الكلوروفورم 1.78% (غ / غ). كما أظهرت قراءة النتائج التي تم الحصول عليها بالنسبة للعاملين المدروسين أن الطحالب الدقيقة لديها القدرة على تقليل الضرر التأكسدي الناجم عن الجذور كما أنها قادرة على منع نمو الخلايا السرطانية بشكل ملحوظ.

كلمات دالة: الطحالب الدقيقة ؛ المركبات النشطة بيولوجيا ؛ التركيبة الكيميائية الحيوية: النشاط المضاد للأكسدة؛ النشاط المضاد للسرطان؛ سد بخدة.

RESUME

L'intérêt des microalgues se manifeste par la diversité de leurs compositions biochimiques, elles ont attiré beaucoup d'attention en tant que source potentielle de nouveaux composés bioactifs. Une raison pour laquelle elles se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés. L'objectif de la présente étude consiste à caractériser les microalgues récoltées des eaux de surface de barrage de Bakhadda, situé à la Wilaya de Tiaret. Ainsi qu'une contribution à la valorisation de leurs différents intérêts potentiels. Après la préparation de la matière sèche par lyophilisation, leur caractérisation a été réalisée en déterminant la composition biochimique. Les extraits obtenus par la suite, ont été testés en termes du pouvoir antioxydant et anticancéreux. Les résultats de la composition biochimique partielle ont montré un taux d'humidité au voisinage de $1,86 \pm 0,19$ %. Elles renferment un taux de cendres de $9,31 \pm 0,22$; une teneur en matière grasse de $12,95$ g / 100g ; une teneur en protéines de $43,5 \pm 0,18$ g/100g et un taux de glucides au voisinage de $13,47 \pm 0,31$ %. Pour les résultats d'extraction de la matière sèche des microalgues, nous avons pu constater que le rendement le plus élevé a été noté pour l'extrait aqueux ($18,87$ % (g/g), cependant, les plus faibles valeurs ont été notées pour l'extrait chloroformique de l'ordre de $1,78$ % (g/g). La lecture des résultats déjà obtenus pour les deux effets étudiés a significativement montré que les microalgues ont une capacité à réduire les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. Il a été constaté que leurs extraits ont pu inhiber remarquablement la croissance des cellules tumorales.

Mots clé : Microalgues ; composés bioactifs ; composition biochimique ; pouvoir antioxydant ; pouvoir anticancéreux ; barrage Bakhadda.

Abstract

The interest of microalgae is manifested by the diversity of their biochemical compositions; they have attracted a lot of attention as a potential source of new bioactive compounds. This is why they are showing great promise for many applications in various fields. The objective of this study is to characterize the microalgae collected from the surface water of the Bakhadda dam, located in the Wilaya of Tiaret. As well as, a contribution to the valorization of their various interesting potential. After the preparation of the dry matter by lyophilization, their biochemical composition was carried out by basic elementary characterization determining. The obtained extracts subsequently were tested in terms of antioxidant and anticancer power. The biochemical composition results showed a moisture level about of $1.86 \pm 0.19\%$. They contain an ash content of 9.31 ± 0.22 ; a fat content of $12.95 \text{ g} / 100\text{g}$; a protein content of $43.5 \pm 0.18 \text{ g} / 100\text{g}$ and a carbohydrate level about of $13.47 \pm 0.31\%$. For the microalgae dry matter extraction results, we could see that the highest yield was noted for the aqueous extract ($18.87\% \text{ (g / g)}$), however, the lowest values were noted for the chloroform extract of the order of $1.78\% \text{ (g / g)}$. Reading the results already obtained for the two effects studied has significantly shown that microalgae have a capacity to reduce the oxidative damage induced by radicals. Also, their extracts were found to be able to remarkably inhibit tumor cell growth.

Keywords: Microalgae; bioactive compounds; biochemical composition; antioxidant power; anticancer power; Bakhadda dam.

Tables des Matières

Tables des matières	ix
Liste des Abréviations	xi
Liste des Tableaux	xii
Liste des Figures	xii
Résumés	vi

1^{ère} partie : Introduction Générale

Introduction	1
---------------------------	---

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel & Méthodes

I. Matériel et Méthodes	5
I. 1. Matériels et produits	5
I. 2. Zone de travail	6
I. 3. Échantillonnage	8
I. 3.1. Prélèvement.....	8
I. 3.2. Transport et conditions de conservation et	8
I. 3.3. Identification des microalgues.....	10
I. 3.4. Préparation des échantillons.....	11
I.4. Caractérisation biochimique des microalgues récoltées	14
I. 4.1. Teneur en cendre.....	14
I. 4.2. Teneur en matières grasses.....	15
I. 4.1. Teneur en protéines.....	15
I. 4.1. Teneur en glucide.....	16
I. 5. Valorisation des extraits bioactifs des microalgues.....	17
I. 5. 1. Extraction des composés bioactifs.....	17
I.5.2. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	19
I. 5.3. Evaluation du pouvoir anticancéreux.....	20

I.6. Analyses statistiques.....	22
---------------------------------	----

Chapitre 2 : Résultats et discussions

II. Résultats et Discussions	23
II. 1. Identification de microalgues récoltées	23
II. 1. 1. Observation microscopique	26
II. 2. Caractérisation biochimique des microalgues récoltées	27
II. 2.1. Détermination du taux de l'humidité	27
II. 2.2. Détermination de la teneur en cendre	27
II. 2.3. Détermination de la teneur en matières grasses	28
II. 2.4. Détermination de la teneur en protéine.....	28
II. 2.4. Détermination de la teneur en glucides.....	29
II. 3. Valorisation des extraits bioactifs des microalgues	30
II. 3.1. Extraction des composés bioactifs	30
II. 3.1.1. Rendements des extractions.....	30
II. 3. 2. Effet antioxydant des extraits obtenus des microalgues.....	31
II. 3.2.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	32
II. 3.2. 2. Evaluation de l'IC 50.....	32
II. 3.2. 3. Corrélation entre des composés bioactifs extraits avec le pouvoir anti – radicalaire.....	33
II. 3. 3. Effet anticancéreux des extraits obtenus des microalgues.....	34
Conclusion	36
Références bibliographiques	38
Annexes	45

Liste des abréviations

ABTS	: Sel d'ammonium de l'acide 2,2'- azinobis-3-ethyl benzothiazoline -6- sulfonique
BCB	: Blanchiment du β -carotène
°C	: Degré Celsius
DMSO	: DiMéthyl SulfOxide
DO contrôle	: Densité optique du tube contrôle négatif
DO échantillon	: Densité optique de l'échantillon
DPPH	: 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle
DPPH (%)	: Pourcentage de réduction du DPPH.
FRAP	: Ferric reduction antioxydant power
IC50	: La concentration d'extrait à 50 % d'inhibition
MS	: Matière sèche
MTT	: bromure de 3-(4,5-diMethylThiazol-2-yl)-2,5-diphenyl Tetrazolium
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity
PBS	: Phosphate Buffered Saline (tampon phosphate salin)
pH	: Potentiel d'hydrogène
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute medium
T	: Température
TRAP	: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses.	P.05
Tableau 2 :	Compositions biochimiques de micro-algues	P.14
Tableau 3 :	Récapitulatif des groupements majeurs des algues	P.25
Tableau 4 :	Composition biochimique des microalgues analysées	P.27
Tableau 5 :	Rendement d'extraction par les différents solvants utilisés	P.31

Liste des figures

Figure 1 :	Photographie de l'emplacement du barrage de Bakhadda dans la Wilaya de TIARET	P.07
Figure 2 :	Photo du barrage de Bakhadda - TIARET	P.07
Figure 3 :	Photographie des microalgues (Bloom) au barrage de Bakhadda	P.09
Figure 4 :	Photographies de quelques microalgues eucaryotes	P.09
Figure 5 :	Structure de microalgue unicellulaire	P.10
Figure 6 :	Lyophilisation des microalgues	P.13
Figure 7 :	Matière sèche après lyophilisation	P.13
Figure 8 :	Extraction des composés bioactifs	P.18
Figure 9 :	Exemples de diversité morphologique des microalgues	P.24
Figure 10 :	Photos microscopiques des souches de microalgues	P.26
Figure 11 :	Courbe d'étalonnage du glucose utilisée dans le dosage des glucides	P.29

Introduction Générale

Introduction générale

Le terme « microalgue » s'est progressivement imposé dans les mondes scientifique et industriel. En effet, depuis quelques années, la biotechnologie microalgale est devenue un thème de recherche privilégié permettant d'explorer et d'exploiter l'énorme potentiel de ces microorganismes intervenant au sein de nombreux systèmes et dans de multiples secteurs industriels comme les domaines énergétique, pharmaceutique, alimentaire et plus récemment environnemental. (Filali, 2012). Ce terme est un terme générique, car il peut être utilisé pour désigner les algues microscopiques au sens strict ainsi que les cyanobactéries. Les microalgues étant polyphylétiques, elles ne peuvent donc pas être considérées comme un taxon (Kherraf, 2018). La classification a été remaniée depuis les années 1990 à l'aide de la biologie moléculaire et permet désormais de réarranger les organismes selon leur histoire évolutive (Pasquet, 2011).

Ces micro-organismes constituent un groupe très diversifié, dans lequel nous retrouvons des espèces procaryotes (micro-algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (micro-algues vertes, rouges et brunes). Les micro-algues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et avec des pigments photosynthétiques renfermés dans les chloroplastes. Les micro-algues procaryotes ont une structure bactérienne classique sans compartiment, les pigments photosynthétiques sont contenus dans des membranes lamellaires. D'un point de vue taxonomique, le classement des micro-algues se fait sur la diversité de leurs propriétés et notamment leurs caractéristiques morphologiques, la pigmentation ou encore l'organisation des membranes (Chen, 2011). Les microalgues eucaryotes et procaryotes ont en commun la photosynthèse oxygénique. Cette réaction assure la transformation du carbone inorganique en énergie chimique en captant l'énergie lumineuse (Sialve et Steyer, 2013).

Les micro-algues présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, en protéines, en vitamines, en pigments et en antioxydants. Elles représentent une source importante de quasi toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent un large panel de pigments, fluorescents ou non, pouvant aussi avoir un rôle d'antioxydants. En plus

Introduction Générale

de la chlorophylle (0,5 à 1% de la matière sèche) qui est le pigment photosynthétique primaire chez toutes les algues photosynthétiques, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type caroténoïdes (0,1 à 0,2% de la matière sèche) et phycobiliprotéines (phycoérythrine et phycocyanine) (Findeling, 2011).

Les micro-algues peuvent accumuler plus de 50% de leur poids sec en lipides. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Ces lipides contiennent des acides gras saturés et polyinsaturés (AGPI) comme les oméga-3 ALA, EPA, DHA, ou les oméga-6 : ARA. (Julie, 2011).

Le contenu élevé en protéines, peptides et acides aminés (entre 12 et 65% de matière sèche) de plusieurs espèces de micro-algues est une des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale en particulier la pisciculture (Sassi, 2011). Certaines espèces présentent aussi une richesse en oligosaccharides et polysaccharides, d'autres encore peuvent produire des molécules à activité antivirales, antibiotiques, ou antiprolifératrices chez l'homme (Lepine, 2011).

L'intérêt des micro-algues se manifeste par la diversité de leurs compositions biochimiques, elles se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés tels que, le domaine de l'agroalimentaire en fournissant des gélifiants comme les carraghénanes et les alginates, qui n'ont pas d'équivalents d'origine terrestre.

Les premières utilisations des micro-algues datent de 2000 ans en Chine, *Nostoc*, une Cyanobactérie, avait été utilisée comme nourriture afin de survivre à une famine (Spolaore et al., 2006). Toujours dans un contexte de pénurie alimentaire, en 1940, les chercheurs se sont intéressés aux micro-algues comme aliments pour leurs teneurs en protéines. En France, l'activité commence à la fin des années 1970 avec l'apparition des premières écloséries de mollusques et la production de micro-algues pour l'aquaculture. En 2005, la production mondiale toutes espèces confondues est estimée à 7000 tonnes de matière sèche par an. Aujourd'hui avec seulement quelques dizaines d'espèces cultivées, la production mondiale

Introduction Générale

n'excède pas 10000 tonnes (Person, 2011). Actuellement, les applications commerciales des micro-algues sont en plein essor. La diversité des espèces et la richesse en métabolites permet un large panel d'applications impliquant ainsi de nombreux secteurs industriels.

Leur utilisation dans le domaine de la cosmétique et de la chimie est en plein essor, indiquant un renouveau dans leur valorisation à l'échelle industrielle. Leurs usage principal est en effet de nourrir les larves d'aquaculture. Elles sont aussi cultivées pour produire du bêta-carotène ainsi que différentes autres molécules d'intérêt pour l'alimentation humaine (Mathieu, 2011). Et dans le domaine énergétique consiste à la synthèse biologique d'hydrogène, de méthane et de carburant. Le développement des technologies environnementales a pris une place de plus en plus importante dans la politique mondiale actuelle. En effet, du fait des conséquences du réchauffement climatique et des émissions importantes de gaz à effet de serre, plusieurs études se sont orientées vers le rôle potentiel des systèmes biologiques, et plus spécialement l'implication de la biotechnologie microalgale, dans la réduction et l'élimination de ces émissions. Une des pistes prometteuses consiste dans la bio-fixation du dioxyde de carbone par les microalgues, celui-ci étant le principal gaz à effet de serre (Filali, 2012). Les extraits des microalgues sont également utilisés par le secteur pharmaceutique, les principes actifs extraits des microalgues sont utilisés comme anti-inflammatoire œsophagien, pour lutter contre l'embonpoint, pour leur effet laxatif ou encore pour les pansements, les microalgues peuvent être utilisées dans une amélioration du confort des diabétiques. En effet, certains polysaccharides issus des microalgues peuvent moduler l'absorption intestinale du glucose et la réponse insulinique à l'alimentation. Par ailleurs, des oligosaccharides extraits des microalgues peuvent améliorer l'équilibre de la flore intestinale du colon, en favorisant la croissance des bactéries comme favorables pour la santé. Ces bactéries sont actuellement largement utilisées des préparations à base de lait peu caloriques, riches en vitamines et en minéraux. (Gana, 2014). Les microalgues utilisées par la filière cosmétique sont souvent les mêmes que celles utilisées pour les applications alimentaires. Cependant, les travaux de recherche mettent en évidence de nouvelles applications pour de nouvelles espèces. La filière cosmétique utilise les microalgues sous forme d'extraits de plantes, broyées (pour les gommages par exemple) ou en tant qu'agents de coloration. Etant donné que le marketing joue un rôle important dans l'industrie des cosmétiques, les microalgues sont souvent

utilisées afin de véhiculer une image de produits naturels apportant les bienfaits de la mer (IDEALG, 2014).

Étant donné le large éventail d'activités associées aux microalgues des eaux douces particulièrement anti-cancéreuses, antioxydantes ainsi que anti-inflammatoires et face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs microorganismes, la recherche de nouvelles molécules bioactives ayant la capacité de jouer ces rôles est devenue une nécessité. Ainsi, l'exploration du milieu des eaux douces dans ce sens pourrait être d'un grand intérêt. La Wilaya de Tiaret comporte trois barrages ; Bakhadda (45 millions de m³), Dahmouni (43 millions de m³) et barrage de Bougara (13 millions de m³).

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de recherche dont l'objectif est la caractérisation des microalgues d'eaux douces récoltées du barrage Bakhadda de la Wilaya de Tiaret pour connaître leur composition biochimique, ainsi qu'une contribution à la valorisation de leurs différents intérêts potentiels.

Pour pouvoir atteindre cet objectif, notre étude s'articule autour de trois volets :

1. *Récolte des microalgues et préparation de la matière sèche ;*
 - ❑ *Centrifugation, filtration et lyophilisation*
2. *Caractérisation de la matière sèche préparée ;*
 - ❑ *Teneur en protéine, lipide, polysaccharides, etc.*
3. *Valorisation des extraits bioactifs des microalgues ;*
 - ❑ *Extraction des composés bioactifs*
 - ❑ *Évaluation du pouvoir anticancéreux et antioxydant*

Partie expérimentale

Chapitre 1

Matériel & Méthodes

I. Matériel et Méthodes :

Notre travail a pour objectif de caractériser les microalgues d'eaux douces récoltées du barrage Bakhadda pour connaître leur composition biochimique, ainsi qu'une contribution à la valorisation de leurs différents intérêts potentiels. Pour réaliser cet objectif, notre protocole expérimental s'articule sur trois volets :

1. Récolte des microalgues et préparation de la matière sèche;
2. Caractérisation biochimique de la matière sèche préparée;
3. Valorisation des extraits bioactifs des microalgues ;
 - ▣ Extraction des composés bioactifs
 - ▣ Evaluation du pouvoir anticancéreux et antioxydant

Il est à noter que vu les conditions actuelles de la pandémie « Covid-19 » qui a généré des perturbations de l'année universitaire en cours, nous avons pu réaliser que 70% du travail (Récolte, caractérisation et extraction). Quant au volet valorisation, nous avons procédé à une synthèse bibliographique.

I. 1. Matériels et produits :

Le matériel utilisé pour réaliser cette étude est composé de verreries, d'équipements et d'appareils. Il comprend aussi un ensemble de réactifs et produits chimiques qui sont mentionnés dans le tableau 01.

Tableau 01: Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses.

Verrières et autres	Appareillage	Réactifs et produits
• Ballon en verre	▣ Microscope optique	- Acide sulfurique
• Bêchers	▣ Agitateur	- Catalyseur mixte (sulfate de potassium et de cuivre)
• Entonnoirs	▣ Autoclave	- NaOH
• Eprovettes	▣ Bain Marie Balance analytique (KERN)	- N-Hexane
• Erlen meyer	▣ Buchi Unit K-355	- Phénolphtaléine
• Etiquettes	▣ Camera	- phénol
• Fioles jaugées	▣ Centrifugeuse	- Soud 33%
• Micropipettes	▣ Etuve (MEMMERT)	- Solvant terpénique
• Papier aluminium	▣ Evaporateur rotatif	- DPPH
• Papiers filtre		

• Papier ph	▣ Four à moufle	- Méthanol
• Portoirs	▣ Lyophilisateur	- Chloroforme
• Pots de prélèvement	▣ Plaques chauffantes	- acide ascorbique
• Récipients en verre	▣ Réfrigérateur	- acétone
• Spatules	▣ Spectrophotomètre	- Formol
• Tubes à essai	▣ Soxhlet	- Lugol

I. 2. Zone de travail :

Le matériel biologique de notre étude est une microalgue. Ce sont des phytoplanctons naturels, poussant à l'air libre ou à l'état sauvage qui sont collectés du barrage de Bekhadda du bassin hydrographique d'une capacité totale de (45 millions de m³), situé au nord de l'Algérie à 25 km à l'ouest de la ville de Tiaret (Figure 1). Le barrage a pour but de stocker les eaux de l'oued Mina, affluent de l'oued Chellif. Il est essentiellement destiné à l'irrigation de la plaine de Relizane et l'alimentation en eau potable de Rouina et Draa Sfa (Serbh, 2011).

Le Barrage mixte de Bakhadda faisait partie du programme dit « Le programme de 1920 » avec les barrages des Beni-Bahdel, de Bou-Hanifia, de l'Oued-Fodda, du Ghrib, du Ksob, des Zardézas et de Foum-el-Gueiss qui formaient un ensemble remarquable, qui a augmenté considérablement le potentiel économique de l'Algérie grâce à la législation spéciale sur l'exploitation en vue de l'irrigation (Décret-loi du 30 octobre 1935). Le barrage de Bakhadda, sur la Mina affluent du Cheliff, est un barrage en enrochement de 45 mètres de haut. Le masque étanche d'une technique un peu plus ancienne, est en béton armé souple.

I.2.1 Caractéristique physique du bassin versant :

- ▣ *La surface: 1280 km² ;*
- ▣ *Périmètre: 155 km ;*
- ▣ *Coefficient de compacité : $Kc = 0.28$;*
- ▣ *Altitude moyenne : 999 m ;*
- ▣ *Point culminant : 1283 m au DJEBEL ARAOUI.*
- ▣ *Capacité : 45 millions m³.*



Figure 1 : Photographie de l'emplacement du barrage Bakhadda dans la Wilaya de TIARET (*Google Maps*)



Figure 2 : Photo du barrage de Bakhadda - TIARET (*Photo originale*)

I. 3. Échantillonnage :

La saison de croissance des microalgues dans le barrage se détermine par l'existence d'un excès de nutriments dans l'eau. L'excès des deux nutriments, le phosphore et l'azote, constitue à chaque instant l'élément déterminant de la production de la biomasse. Ces microalgues consomment du dioxyde de carbone et des micronutriments; ils sont cultivés naturellement à proximité des rejets liquides des villes en amont du barrage. Ce serait un moyen de traitement des effluents tout en produisant des microalgues qui émettent de l'oxygène afin qu'il n'y ait pas d'odeur à ce barrage, donc elles ont un impact environnemental (Bouzid et Djelita, 2012).

La séparation des algues du milieu de culture naturel des eaux du barrage pour cette étude est une étape cruciale. En effet, la solution d'algues présente dans le bassin de culture est très diluée (0,1 - 0,3% de matière sèche) et principalement stable. Cette stabilité est due à la petite taille des microalgues et leur faible différence de densité avec le milieu de culture, ce qui les fait rester en suspension. Aussi, la membrane chargée négativement dans la plupart des microalgues, les empêchant de s'agréger. L'intensité de cette charge est fonction du type d'algue, du milieu de culture et de son pH. Cette stabilité et ce caractère dilué vont compliquer l'opération de la récolte des microalgues (Singh, et Patidar, 2018).

I.3.1 Prélèvement :

Le prélèvement des échantillons des microalgues se fait manuellement par la collecte du filet du phytoplancton durant de la période floraison (Figure 3). On prélève litre par litre à la profondeur qui ne doit pas dépasser 30 cm de la surface de l'eau. L'échantillon collecté est versé dans un flacon en verre. Les microalgues prélevées ont été rincées sur place avec de l'eau du barrage puis avec l'eau distillée au niveau du laboratoire. L'ensemble des phytoplanctons collecté, représente un mélange de différentes espèces comprenant : Chlorophycée, Cyanophycées, Diatomophycées et Euglenophycée (Figure 4).

I.3.2 Transport et conditions de conservation :

Les échantillons doivent être transportés dans une glacière. Leur conservation doit se faire à 4°C et à l'obscurité au laboratoire jusqu'à l'analyse. Une fois les algues concentrées et séparées du milieu de culture, une pâte d'algues est obtenue. La durée de vie de celui-ci est limitée et il faut donc la traiter rapidement.

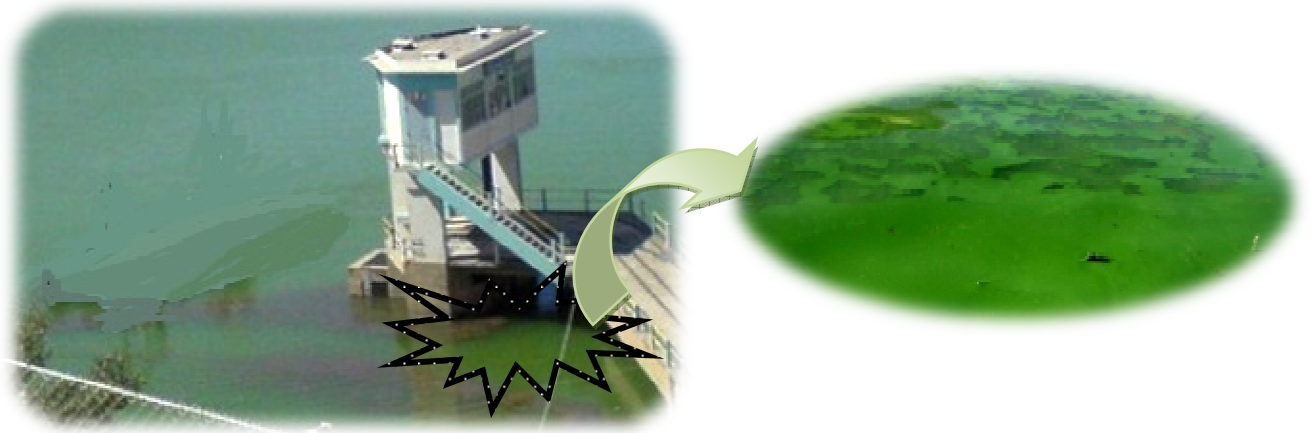
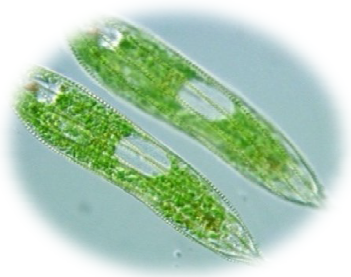


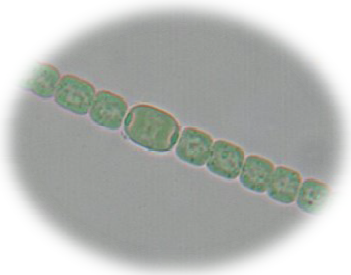
Figure 3 : Photographie des microalgues (Bloom) au barrage de Bakhadda. (*Photo originale*)



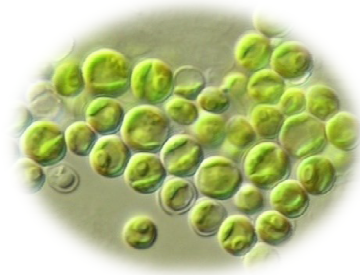
Euglenophycée (<http://protist.i.hosei.ac.jp>)



Diatomée (<http://ccala.butbn.cas.cz/en>)



Cyanobactérie Anabaena (<http://www.dr-ralf-wagner.de>)



Chlorophycée
(http://botany.natur.cuni.cz/algo/CAUP/H1955_Chlorella_vulgaris.htm)

Figure 4 : Photos de quelques microalgues eucaryotes

I.3.3 Identification des microalgues :

Les microalgues constituent un groupe très diversifié, dans lequel nous retrouvons des espèces procaryotes (micro-algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (micro-algues vertes, rouges et brunes). Les micro-algues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et avec des pigments photosynthétiques renfermés dans les chloroplastes (Figure 5).

L'identification des différentes espèces de microalgues récoltées a été réalisée par observation microscopique optique de la forme des cellules. La suspension contenant les microalgues doit être placée sur la lame pour l'observer sous microscope optique. On ajoute de l'eau physiologique dans le flacon si les échantillons sont condensés. Brasser la suspension et prélever quelque goutte d'échantillon. Puis, sur une lame, quelques gouttes d'échantillon ont été déposées. Une goutte du lugol doit être déposée entre la lame et la lamelle. L'observation au microscope se fait au (x10 et x 40).

Les caractères morpho-anatomiques représentent les clés d'identification proposées par Bourrelly, (1985). Les critères retenus sont : La structure de la microalgue (cellulaire ou filamenteuse) ; La forme de la colonie ou du trichome ; La taille et la couleur ; La présence ou non : de gaine gélatineuse (couleur et aspect), d'akinètes, d'hétérocystes, de vacuoles gazeuses (Souissi , et al, 2004).

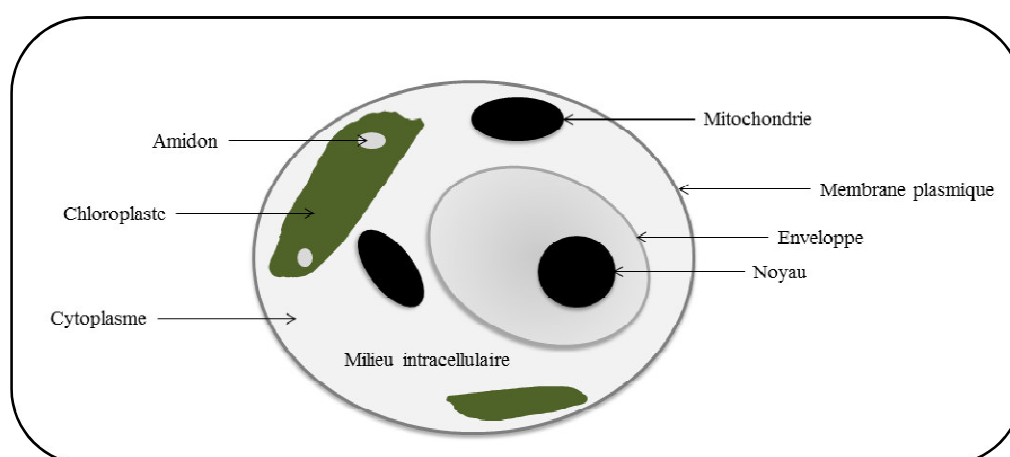


Figure 5 : Structure de microalgue unicellulaire

I.3.4 Préparation des échantillons :

Les microalgues récoltées ont été rincées sur place avec de l'eau du barrage puis avec l'eau distillée au niveau du laboratoire. La biomasse peut être utilisée humide ou séchée. Elle peut être séchée par séchage solaire avec une longue durée de séchage, par pulvérisation, surtout pour les molécules à haute valeur ajoutée, et qui est coûteux et détruit les pigments présents dans les algues, ou par lyophilisation qui est coûteuse mais nécessaire pour assurer une bonne extraction des huiles (Brennan et Owende, 2010). Dans la littérature, la récolte peut se faire par centrifugation, filtration, floculation, sédimentation ou flottation.

▣ La centrifugation :

Cette technique de concentration utilise la force centripète afin de permettre la séparation des micro-algues avec le milieu de culture par simple différence de densité. Selon Park et al. (2011), la centrifugation est efficace à 90% et le taux de récupération est directement lié au débit fixé en amont. Cette méthode est rapide et efficace, et représente une des méthodes les plus utilisées à l'échelle industrielle. Cependant, cette méthode est coûteuse en énergie ce qui la rend difficilement réalisable économiquement (Rawat et al., 2011).

▣ La sédimentation :

La sédimentation est une technique qui repose sur le principe de gravité. Les cellules en suspension dans le milieu vont être soumises à la gravité et vont former dans la partie inférieure un dépôt de particules solides et dans la partie supérieure une phase liquide. Les micro-algues de grande taille et de forte densité vont pouvoir être récoltées par sédimentation comme par exemple la spiruline. La vitesse de sédimentation peut être nettement améliorée grâce à l'ajout de flocculants (Chen et al., 2011).

▣ La filtration :

Dans cette méthode, la suspension micro-algale passe au travers d'un filtre, en ne retenant que les cellules. Il existe différentes formes de filtration ; la microfiltration, la filtration sous vide, sous pression, l'ultrafiltration et la filtration à flux tangentiel. Le choix du type de filtration sera dépendant de la taille de l'espèce à récolter. En dépit d'être des méthodes de récoltes

attractives, d'un point de vue énergétique, la microfiltration et la filtration sous vide sont coûteuses en énergie (Dejoye Tanzi, 2013).

❑ La floculation :

La floculation est un procédé dans lequel les particules en solution se rejoignent afin de former des agrégats appelés (flocs). Lorsque la floculation est combinée à la sédimentation ou à la filtration son efficacité est nettement augmentée (Rawat et al., 2011).

❑ La flottation :

La flottation est un procédé basé sur la gravité, dans lequel des bulles de gaz sont liées aux particules solides (cellules micro-algales) leur permettant ainsi de (flotter) à la surface. Des études ont montrées que le système de flottation pour la récolte des micro-algues était une méthode efficace pour les cellules de petites tailles comme *Nannochloropsis oculata* (Rawat et al., 2011).

En ce qui concerne notre étude, et afin de préparer de la matière sèche des microalgues nous avons procédé à trois étapes principales :

1. **Filtration du milieu de culture:** Cette méthode consiste à faire circuler le milieu de culture perpendiculairement à la surface d'un filtre (moins de 40 μm), sur lequel les cellules de microalgue se concentrent constamment.
2. **Centrifugation :** l'application d'une force comprise entre 500 et 1000g permet d'isoler rapidement de 80 à 90% des microalgues contenues dans le milieu de culture.
3. **Lyophilisation :** L'échantillon congelé de microalgues brutes (environ 200 g) a été introduit directement dans le lyophilisateur au niveau du laboratoire de Chimie, Université de Tlemcen (Figure 6). La température a été réduite à $-51,4^{\circ}\text{C}$ et la pression a encore été réglée à 0,011 mbar. Le processus de la lyophilisation a été réalisé sous vide pendant 48h. La matière sèche a été stockée à -20°C jusqu'à utilisation pour les extractions.



Figure 6 : Lyophilisation des microalgues (*Photo originale*)

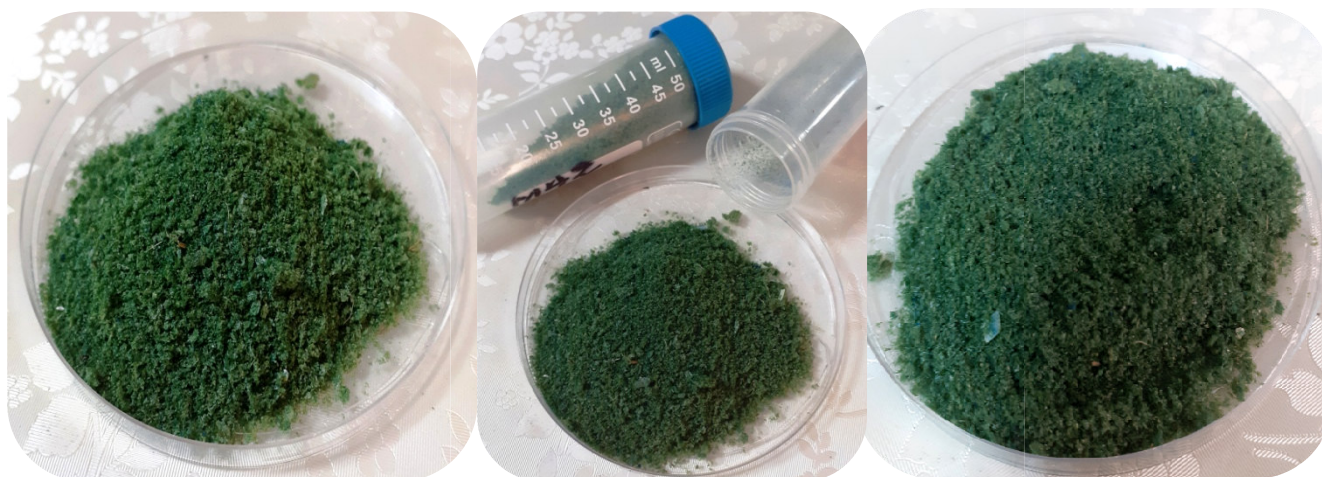


Figure 7: Matière sèche après lyophilisation (*Photo originale*)

I. 4. Caractérisation biochimique des microalgues récoltées :

L'intérêt des micro-algues se manifeste par la diversité de leurs compositions biochimiques. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, protéines, polysaccharides, vitamines, pigments et antioxydants (Tableau 2). Elles représentent une source importante de quasiment toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent un large panel de pigments, fluorescents ou non, pouvant aussi avoir un rôle d'antioxydants. En plus de la chlorophylle (0,5 à 1% de la matière sèche) qui est le pigment photosynthétique primaire chez toutes les algues photosynthétiques, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type caroténoïdes (0,1 à 0,2% de la matière sèche) et phycobiliprotéines (Becker, 2007).

Tableau 2 : Compositions biochimiques de micro-algues (Becker, 2007)

Micro-algues	Protéines (%)	Polysaccharides (%)	Lipides (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Spirulina platensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11

Dans notre travail, la caractérisation des microalgues obtenues du barrage a été réalisée en déterminant la teneur en cendre, en matières grasses, en protéines et en glucides.

I.4.1 Teneur en cendre :

La teneur en matière minérale de la matière sèche préparée est déterminée après calcination selon la méthode standard (AOAC, 1995). Un (1) g d'échantillon sec est placé dans un creuset en porcelaine préalablement pesé. Le creuset est mis dans un four à mufles à 600°C pendant 6 heures. Après refroidissement à température ambiante à l'abri de l'humidité dans un dessiccateur, le creuset est pesé contenant le résidu. Le taux de cendres contenu dans l'échantillon se calcule de la manière suivante :

$$\text{Cendre (\%)} = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

D'où :

m_1 : Masse initiale de l'échantillon.

m_2 : Masse du résidu après calcination.

La mesure de la différence entre le poids sec initial et le poids sec final permet de déduire la teneur en matière minérale de l'échantillon.

I.4.2 Teneur en matières grasses :

Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide de dispositif Soxhlet d'une capacité de 250 ml. Trois (3) g d'échantillon sont pesés dans une cartouche en carton poreux, après introduction de 150 ml de n-hexane pur dans le ballon à col rodé, la cartouche est déposée dans l'extracteur et les trois parties de l'appareil sont assemblées. L'hexane est alors porté à ébullition pendant 6 h sur des plaques chauffantes jusqu'à obtention d'un maximum d'hexane dans l'extracteur. La matière grasse extraite est mesurée après élimination du solvant en utilisant un évaporateur rotatif sous vide pour évaporer le n-hexane à 35°C pendant 60 minutes. La teneur en lipides est ainsi déduite (Kherraf, 2018).

Le taux de matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$MG (\%) = \frac{P1 - P2}{ME} \times 100$$

D'où :

- MG% : Taux de la matière grasse.
- P1 : Poids du ballon après évaporation.
- P2 : Poids du ballon vide.
- ME : la masse de la prise d'essai

I.4.3. Teneur en protéines :

La détermination de la teneur en protéines totales a été effectuée par la détermination de l'azote total selon la méthode de Kjeldhal qui est une méthode officielle et standard (AOAC, 1995). Un (1) g de la matière sèche est introduit dans des tubes prévus à cette analyse. Une pastille de minéralisation et 15 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés dans les tubes. Ensuite, les tubes coiffés de leurs capteurs de fumée sont mis à chauffer progressivement jusqu'à

450°C. Après une heure et 30 min et lorsque la solution est devenue de couleur vert pâle, la minéralisation a été arrêtée. Après refroidissement des tubes, les capteurs de fumée sont rincés avec de l'eau distillée récupérée dans les tubes. Le contenu des tubes est installé dans une unité de distillation automatisée (Unité de Distillation et Titration UDK 152).

Le taux de protéines brutes a été déterminé en multipliant la quantité d'azote par le facteur (5,95), qui est un facteur utilisé pour la conversion de l'azote en protéine dans les microalgues (Lopez et al. 2010).

I.4.4. Teneur en glucide :

Nous avons utilisé la méthode décrite par Albalasmeh et al., (2013) en utilisant le phénol et l'acide sulfurique, pour déterminer la teneur en glucides dans la matière sèche de microalgues. Elle est considérée comme la méthode colorimétrique la plus largement utilisée pour la détermination de la teneur en glucides dans des solutions aqueuses. Le principe de base de cette méthode est la production de dérivés de furfural par déshydratation de glucides par réaction avec de l'acide sulfurique concentré. Une autre réaction entre les dérivés du furfural et le phénol développe une couleur détectable.

L'absorbance de la solution a été mesurée à 490 nm. Le glucose a été utilisé comme solution de référence pour la courbe d'étalonnage dans les mêmes conditions opératoires à des concentrations comprises entre 0 et 0,5 mg/mL.

La concentration des glucides est exprimée en milligramme équivalent de glucose par gramme d'extrait (mg EG/mg ES) et elle est calculée selon l'équation suivante :

$$[\text{Glucides}] = (A \times F) \div C$$

D'où :

A : Concentration des glucides (mg/mL) déterminée à partir de courbe étalonnage ;

C : Concentration de l'extrait ;

F : Facteur de dilution.

I. 5. Valorisation des extraits bioactifs des microalgues :

Les microalgues représentent une source de biomasse et de biodiversité unique dans le monde vivant. Leur diversité est plus grande que toutes les plantes terrestres ; on en trouve certaines riches en protéines, minéraux, vitamines, pigments ou lipides. Leurs performances biologiques et la variété des espèces prédisposent les micro-algues à se positionner dans la course aux énergies renouvelables et notamment vers la production de biodiesel (Becker, 2004). Mais aussi pour d'autres applications aux profits d'autres domaines (Aquaculture, Agriculture, Production de biomasse à but alimentaire, Traitement des eaux usées, Production de molécules à haute valeur ajoutée, ..etc.).

Dans notre étude, nous avons essayé d'étudier la possibilité d'utiliser les extraits bioactifs de la matière sèche obtenue du barrage comme des antioxydants et des anticancéreux. Pour se faire, nous avons procédé d'abord à l'extraction des composés bioactifs en utilisant les solvants organiques.

I. 5. 1. Extraction des composés bioactifs :

Les composés bioactifs y compris les lipides des micro-algues sont stockés au sein des cellules qui peuvent être protégées par une épaisse paroi. Ainsi, leur extraction nécessite donc une étape visant à fragiliser les parois cellulaires afin de les rendre accessibles aux solvants. Pour ce faire, plusieurs traitements sont possibles : le broyage, les ultrasons (Kim et al., 2013), les micro-ondes (Koberg et al., 2011), les chocs osmotiques, la lyse enzymatique, etc... (Cho et al., 2013). L'acétone et le méthanol sont les principaux solvants utilisés pour l'extraction des pigments. Le méthanol a quelques avantages pour l'extraction, tels que la volatilité inférieure par rapport à l'acétone, et produit également des pics avec une résolution plus élevée par rapport aux pigments extraits dans l'acétone (Dejoye Tanzi, 2013). Le solvant d'extraction idéal des lipides marins doit non seulement satisfaire les critères mentionnés précédemment mais aussi posséder un point d'ébullition faible afin de faciliter son élimination.

Dans notre étude, la méthode de macération a été optée pour extraire les composés actifs présents dans les microalgues (Figure 8), en utilisant quatre solvants de polarités différentes: eau, eau/méthanol (20:80 ; v/v), eau/acétone (10:90 ;v/v) et le chloroforme. Un (1) g de la biomasse lyophilisée a été macéré dans 60 mL, à l'obscurité et sous agitation magnétique pendant 24h, à la

température ambiante (25°C). Ces extractions ont pour but d'essayer de couvrir tout le spectre de polarité des différentes molécules de la microalgue. Tous les extraits ont été ensuite filtrés en utilisant du papier filtre Whatman (grade 1) et évaporés sous pression réduite dans un évaporateur rotatif afin d'obtenir un résidu sec. Les extraits aqueux ont été centrifugés et le surnageant récupéré a été filtré et lyophilisé. Les extraits aqueux ont été stockés à – 20°C pour être récupéré ensuite dans le méthanol pour une analyse ultérieure (Djamai, 2019).

Le rendement d'extraction est calculé à partir l'équation suivante :

$$R (\%) = \frac{Me}{Mt} \times 100$$

D'où :

Me : Masse d'extraits ;

Mt : Masse totale de la matière sèche ;



Figure 8: Extraction des composés bioactifs (Photo originale)

I. 5.2. Évaluation du pouvoir antioxydant :

L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits obtenus à partir de la matière sèche des microalgues peut se faire par plusieurs méthodes. On cite la méthode par le piégeage du radical libre DPPH, la méthode de blanchiment du β -carotène (BCB), la méthode de réduction de fer (FRAP),...etc.

Dans la présente étude, la capacité antioxydante des différents extraits a été évaluée en utilisant le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH). Le principe de cette méthode est basé sur la capacité du radical DPPH à être réduit à la forme d'hydrazine qui est non radical tout en acceptant un atome d'hydrogène, selon la méthode de Larrauri et Saura, (1998). L'avantage de cette méthode est qu'elle est indépendante de la polarité de l'échantillon en plus qu'elle est rapide, simple et pratique.

Un volume de 50 μ L de chaque extrait à différentes concentrations est ajouté à 1,950 L de la solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée (0,025 mg/ mL). Le mélange a été vortexé et maintenu pendant 30 minutes à l'obscurité. La diminution de l'absorbance de la solution, due à l'activité donneuse de proton par composant (s), a été mesurée par un spectrophotomètre UV-visible à 517 nm. Les mesures ont été effectuées en triplet pour chaque concentration. L'activité antioxydante de l'extrait a été exprimée en IC50 (concentration d'inhibition à 50 %). Cette valeur a été définie comme la concentration en mg de matière sèche par mL (mg/ mL). L'acide ascorbique (Vitamine C) est utilisé comme référence (un antioxydant très puissant), et son IC50 a été utilisée pour comparer l'activité de balayage radicalaire des différents extraits testés (Djamai, 2019).

Le pourcentage de réduction du DPPH (DPPH %) est calculé par la formule suivante :

$$\text{DPPH (\%)} = \frac{(\text{DO contrôle}) - (\text{DO échantillon})}{(\text{DO contrôle})} \times 100$$

Où :

DPPH (%) : Pourcentage de réduction du DPPH.

DO contrôle : Densité optique du tube contrôle négatif.

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

La valeur IC50 est la concentration d'extrait qui assure la réduction de 50 % du DPPH, déterminée graphiquement par la régression linéaire, pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration. La stabilité et la linéarité de la solution de DPPH doivent être évaluées avant de commencer le test antioxydant et le résultat est présenté graphiquement. Selon la méthode décrite par Djamai, (2019) ; cinq solutions de DPPH (20, 40, 60, 80, 100 µg/mL) ont été préparées, puis l'absorbance des échantillons a été mesurée à 30, 60 et 120 min à 517 nm dans l'obscurité, avec du méthanol à blanc avec le spectrophotomètre UV-Visible.

I. 5.3. Évaluation du pouvoir anticancéreux :

Pour pouvoir évaluer l'activité antiproliférative d'un composé, deux méthodes sont possible. *In vivo* ; en utilisant des rats atteints de cancer et on suit son évolution après application du composé en question avec une comparaison à un témoin (sans application). *In vitro* ; en utilisant une lignée des cellules cancéreuses issue d'un patient et cultivée dans un milieu de culture jusqu'au aboutissement des résultats.

Dans notre étude, nous n'avons pas pu réaliser cette évaluation au laboratoire. Toutefois, il a été programmé l'utilisation du MTT (bromure de 3-(4,5-diMethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl Tetrazolium) pour déterminer l'activité antiproliférative des extraits obtenus des microalgues. Ce test est réalisé sur une lignée de cancer bronchique : la lignée A549.

Le MTT test donne une indication du fonctionnement mitochondrial. Il consiste à mesurer l'activité de la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes. Cette enzyme, par coupure du cycle tétrazolium, transforme le MTT, de couleur jaune, en cristaux de formazan bleus. Après dissolution dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde) des cristaux, une lecture spectrophotométrique est réalisée à 550 nm (Mosmann, 1983). Les absorbances obtenues sont directement proportionnelles au nombre de cellules vivantes.

Le protocole expérimental programmé est inspiré de l'étude de Pasquet, (2011). Les étapes sont comme suit :

❑ Dépôt des cellules en plaque (96 puits) :

Le milieu de culture contenant les cellules cancéreuses est déposé dans des plaques à raison de 100 µl dans chaque puits. Les cellules sont utilisées à une concentration de 10^5 cellules

/ml équivaut à 10^4 cellules / 100 μ l. les plaques sont incubées 24h à 37°C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et 95% d'humidité.

▣ *Dépôts des extraits obtenus :*

Des solutions mères à 1mg/ml sont préparées, par solubilisation des extraits acétonique, méthanolique, dichlorométhanique et hexanique dans le DMSO à 1%. L'extrait aqueux est solubilisé dans l'eau distillée stérile. En suite, les extraits ont été dissous dans le milieu de culture RPMI 1640 pour obtenir différentes concentrations (5 μ g. ml⁻¹, 10 μ g. ml⁻¹, 25 μ g. ml⁻¹, 50 μ g. ml⁻¹, 75 μ g. ml⁻¹, 100 μ g. ml⁻¹ et 150 μ g. ml⁻¹).

Pour chaque extrait, 100 μ l des différentes dilutions sont déposés dans un puits. Les plaques sont laissées à incuber pendant 72 h à 37°C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

▣ *Révélation de la croissance :*

Après 72 h d'incubation, le MTT diluée à 5mg.ml⁻¹ dans du tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) (pH = 7,4 ; 0,1 M) puis au 1/10 dans le milieu culture RPMI 1640, est déposé à raison de 100 μ l dans chaque puits. Les plaques sont incubées pendant 3h à 37°C sous une atmosphère contrôlée à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité.

Le milieu de culture est retiré, et les cristaux de formazan sont dissous dans 100 μ l d'isopropanol. L'absorbance dans chaque puits est mesurée à 550 nm par un lecteur de microplaques après 1h d'incubation.

▣ *Détermination des CI50 et expression des résultats :*

Les CI50 (concentration inhibant 50% de la croissance cellulaire) sont calculées pour 72h d'incubation des cellules, en phase exponentielle de croissance. La détermination des CI50 se fait en deux temps : Les pourcentages de croissance pour chacune des concentrations sont déterminés à partir de l'équation suivante :

$$\mathbf{Cex\ (\%)\ =\ \frac{Acex}{At}\ x100}$$

Où :

Cex (%) : % de croissance des cellules en présence d'extrait d'une concentration donnée.

Acex : Absorbance mesurée à 550 nm après 72h d'incubation des cellules en présence d'extrait d'une concentration donnée.

At : Absorbance mesurée à 550 nm après 72h d'incubation des cellules en absence d'extrait (Témoin).

I.6. Analyses statistiques :

L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel statistique informatisé STATISTICA. Tous les analyses et dosages des échantillons ont été réalisés en triplet dans un ordre aléatoire et des moyennes ont été considérées (sous forme de moyenne \pm écart type).

Chapitre 2

Résultats & Discussions

II. Résultats et Discussions :

Dans cette partie, nous allons présenter et interpréter les résultats obtenus des différents dosages et analyses réalisés afin d'évaluer la qualité biochimique de la matière sèche des microalgues d'eaux douces récoltés du barrage, d'une part. Et d'évaluer le pouvoir antioxydant et anticancéreux de leurs extraits d'autre part.

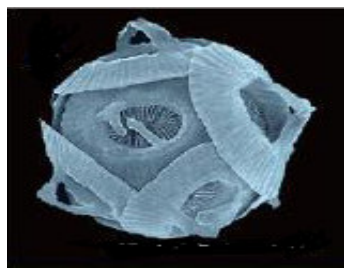
II.1. Identification de microalgues récoltées:

Les microalgues sont très diversifiées et environ 30 000 espèces ont déjà été analysées. Ce nombre représente moins de 10 % du total existant estimé. Les chercheurs ont analysé les microalgues pour les différencier et les classer en plusieurs classes selon des critères généraux comme la pigmentation, la structure biologique, l'organisation des membranes photosynthétiques et le métabolisme (Carlsson et al., 2007).

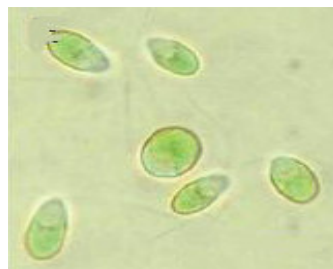
Elles peuvent avoir des formes variables, souvent sphériques (Porphyridium), en forme de croissant (Clostridium), de spirale (Arthrospira), de gouttelette (Chlamydomonas) et même d'étoile (Staurastrum) comme il est indiqué sur la figure 9.

Quant à leur taille, les microalgues peuvent mesurer de quelques micromètres à plusieurs centaines de micromètres, selon les espèces. Elles présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules (Kherraf, 2018).

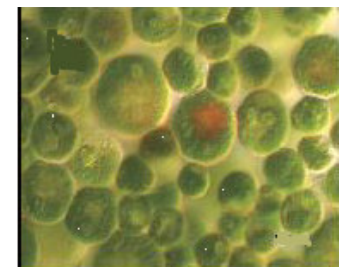
Par ailleurs, elles se sont très rarement regroupées en fonction de leur métabolisme énergétique ou encore en fonction de leur habileté à synthétiser les métabolites nécessaires, mais plutôt en fonction de leurs propriétés morphologiques. Il existe donc différentes classes taxinomiques de microalgues dont les principales sont les cyanophycées, les chrysophycées, les rhodophycées, les euglénophycées, les chlorophycées et les bacillariophycées (Tableau 3).



Gephyrocapsa



Dunaliella tertiolecta



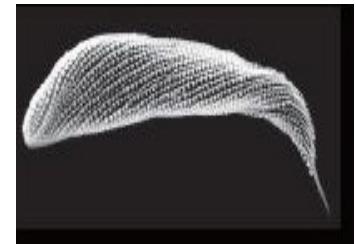
Haematococcus lacustris



Spirulina platensis



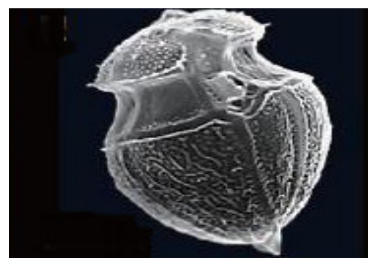
Chlorella vulgaris



Chaetoceros calcitrans



Chlamydomonas



Dinophysis acuminata



Alexandrium



Raphidophyceae



Botryococcus



Bacillariophyceae

Figure 9: Exemples de diversité morphologique des microalgues (Sumi, 2009).

Tableau 3 : Récapitulatif des groupements majeurs des algues selon Mitchell, 1974

Phylum	Nom Commun et Espèces	Pigments	Caractéristiques
Cyanophyte	Algues bleues-vertes Spirulina, Anabaena	bleu-vert: phycocyanine, phycoérythrine, chlorophylle a et b	Multicellulaire ou unicellulaire mais Habituellement microscopique.
Euglenophyte	Euglenoïde Euglena	Vert	Unicellulaire, mobile, sans membrane cellulaire.
Chlorophyte	Algues vertes Chlorella, Scenedesmus	Vert: chlorophylle a et b.	Unicellulaire, multicellulaire, quelques unes microscopiques, membrane cellulaire formée de cellulose et de pectine.
Chrysophyte	Algues jaune-vertes ou brunes claires Diatomées	Jaune - vert, brun clair: xanthophylle, carotènes et chlorophylle.	Microscopique, unicellulaire, leur membrane cellulaire contient de la silice.
Pyrophyte	Dinoflagellés, Peredinium, Massartia	jaune-vert, brun foncé: Xanthophylle, chlorophylle a et c.	Unicellulaire, mobile, membrane cellulaire en cellulose.
Phaeophyte	Algues brunes Fucus	Vert d'Olive, brun foncé: fucoxanthine, xanthophylle, chlorophylle a et c.	Multicellulaires principalement, vivent dans les eaux marines, leur membrane cellulaire est formée en pectine et en cellulose.
Rhodophyte	Algues rouges Polysiphonia	Rouge: phycocyanine, phycoérythrine et chlorophylle a.	La plupart sont multicellulaires, vivent dans les eaux marines et possèdent une membrane en cellulose et en pectine.

II.1.1. Observation microscopique :

L'observation microscopique de la morphologie a été optée pour identifier les espèces présentes dans la solution microalgale récoltée. La comparaison des différentes formes présentes a montré que l'espèce dominante parmi les souches d'eau douce isolées était *Chlorella* (Figure 10).

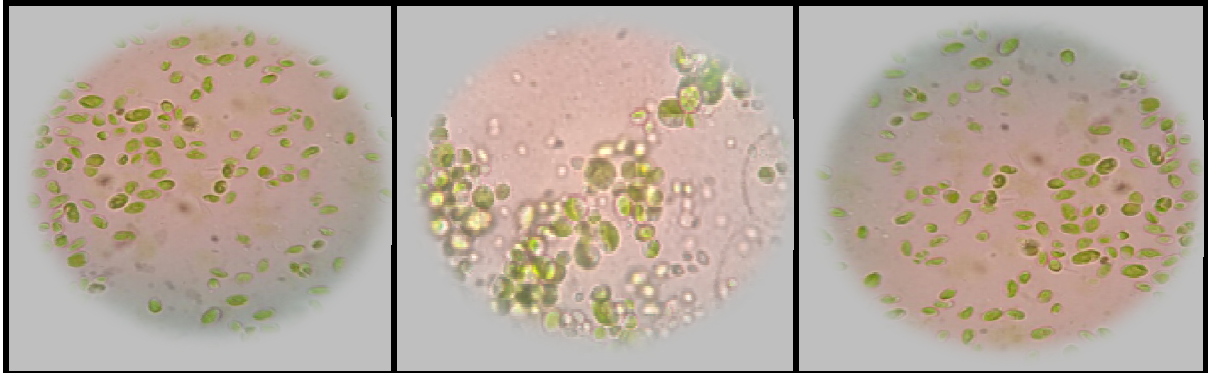


Figure 10 : Photos microscopiques des souches de microalgues (*Photo originale*)

Le genre *Chlorella* appartient au groupe des Chlorophycées qui se sont retrouvées dans tous types d'habitat. Ces microorganismes présentent des formes filamenteuses (Pulz et al., 2004). On dénombre actuellement 8 000 espèces, dont 1 000 sont des chlorophytes marines (Alcaine, 2010). En plus de *Chlorella*, les espèces les plus connues sont, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* ainsi que *Haematococcus* (Pulz et al., 2004).

II. 2. Caractérisation biochimique des microalgues récoltées :

La composition biochimique des microalgues analysées dans notre étude ainsi que celle trouvée par d'autres études à titre comparatif sont présentées dans le tableau 4 ci-dessous.

Tableau 4: Composition biochimique des microalgues analysées.

	Nos résultats	Résultats		
		Becker, 2007	Trivedi et al., 2015	Kherraf, 2018
Humidité (%)	1,86 ± 0,19	-	-	9,33
Cendres (%)	9,31 ± 0,22	-	-	6,4
Lipides (g/100g)	12,95 ± 0,67	14 - 22	2	7
Protéines (g/100g)	43,5 ± 0,18	51 - 58	57	13,38
Glucides (g/100g)	13,47 ± 0,31	12 - 17	26	7,13

(Moyenne ± écart-type ; n = 3)

II.2. 1. Détermination du taux de l'humidité :

Le taux d'humidité des microalgues lyophilisées a été trouvé au voisinage de 1,86 ± 0,19 %. Une valeur nettement inférieure à celle trouvée par Kherraf. (2018). Ce qui explique l'efficacité de la lyophilisation comme méthode de conservation. Il est à signaler que pour la détermination de l'humidité et par conséquent la teneur en matière sèche, 2 g d'échantillon ont été pesés pour déterminer le poids humide, puis placés dans une étuve à une température de 90°C jusqu'à obtention d'une masse sèche constante (AOAC, 1990).

II.2.2. Détermination de la teneur en cendre :

Une teneur trop élevée en cendres dans les aliments est généralement indésirable; cependant, les cendres d'algues peuvent contribuer à satisfaire la dose journalière recommandée de minéraux dans la nutrition humaine (Sánchez-Machado et al., 2004).

Les analyses effectuées ont révélé que la microalgue renferme un taux de cendres au voisinage de $9,31 \pm 0,22$. Cette richesse en minéraux change en fonction des paramètres de culture (Camacho Rodríguez et al., 2009).

II.2.3. Détermination de la teneur en matières grasses :

La teneur en matière grasse dans les microalgues dépend de l'espèce et est affectée par des conditions de culture telles que les nutriments, la salinité, les périodes d'intensité lumineuse, la température, le pH et même l'association avec d'autres micro-organismes (Li et al., 2009). Pour l'exemple de la *Chlorella vulgaris*, environ 68% d'acides gras saturés et monoinsaturés peuvent être accumulés dans des conditions de croissance mixotrophes, ce qu'est plus adaptable à la production de biodiesel (Djamai, 2019).

Dans notre travail, nous avons trouvé un taux de 12,95 g / 100g de matière sèche algale. Une valeur largement supérieure à celles trouvée par Trivedi et al., (2015) et Kherraf, (2018); 2 et 7 respectivement. Mais elle reste plus ou moins inférieure aux valeurs mentionnées par Becker, (2007) ; entre 14 et 22 % (Tableau 4).

II.2.4. Détermination de la teneur en protéine :

Les protéines représentent un élément indispensable dans la cellule microalgale, dont ils jouent un rôle capitale dans leur croissance, réparation ainsi que leur maintenance. Il est aussi un régulateur cellulaire et de défense contre les intrus qui menace la cellule (Djamai, 2019). Ainsi, les microalgues représentent une source alternative des protéines et de divers acide aminés qui est due à son contenu élevé estimé entre 40 et 60% de la matière sèche (Sialve et Steyer, 2013).

La teneur en protéines a été cherchée par la méthode de Kjeldahl en utilisant le facteur de conversion de l'azote 5,95. La multiplication de la quantité d'azote trouvée par ce facteur, nous a donné une valeur de $43,5 \pm 0,18$ g/100g qui est nettement inférieure à celle rapportée par Trivedi et al., (2015) (57 %), mais supérieure à celle trouvée par Kherraf, (2018) (13,38 %). D'autres études ont signalé qu'une élévation de la concentration en CO₂ peut induire une diminution des protéines chez *Spirulina platensis* (Gordillo et al., 1998). Donc, la qualité de l'eau de barrage conditionne la composition de la biomasse microalgale.

II.2.5. Détermination de la teneur en glucides :

Il a été rapporté que les hydrates de carbone des microalgues peuvent apporter des bienfaits pour la santé humaine sous forme d'anticoagulants, d'antiviraux, de fibres alimentaires et d'antioxydants (Wijesekara et al., 2011). Les glucides représentent entre 8 et 30% de la matière sèche microalgale, ils ont un rôle de structure car ils rentrent dans la composition de la paroi cellulaire. Ce sont aussi une matière de réserve énergétique de la cellule.

Nous avons trouvé un taux de glucides ($13,47 \pm 0,31$) identique à celui trouvé par Becker, (2007), supérieure à la valeur présentée par Kherraf, (2018) et inférieure à celle rapportée par Trivedi et al., (2015). Comme toute la composition microalgale, le taux des glucides peut être affecté par le changement des paramètres de culture (Azote, température, pH, CO₂, ..).

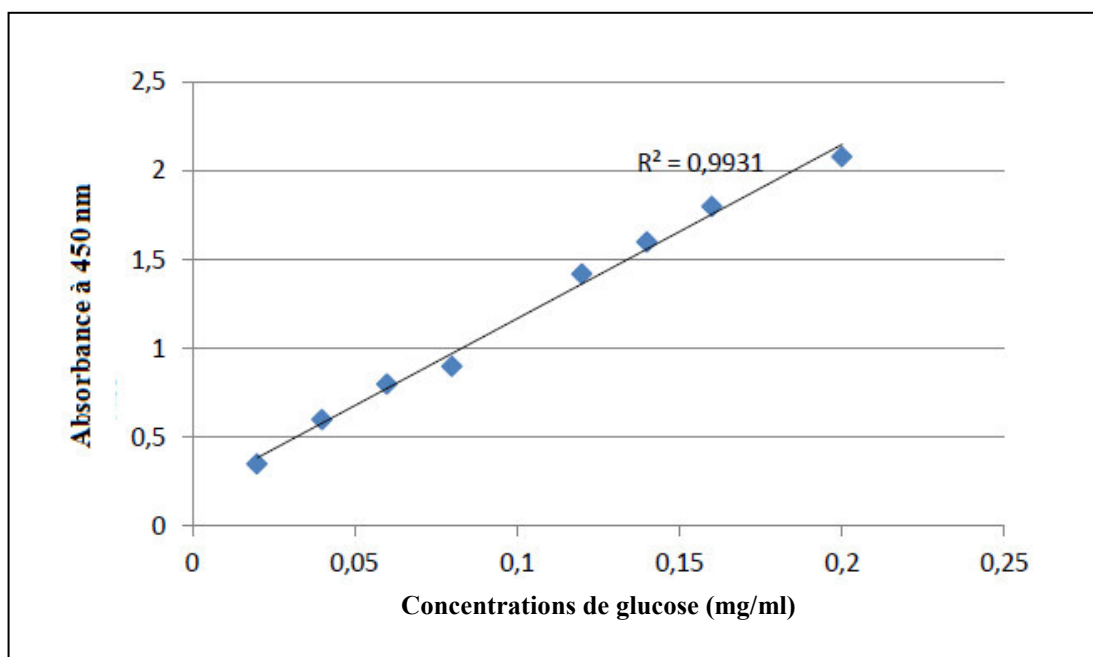


Figure 11 : Courbe d'étalonnage du glucose utilisée dans le dosage des glucides.

II. 3. Valorisation des extraits bioactifs des microalgues :

Le deuxième volet de notre étude a été consacré à étudier la possibilité d'utiliser les extraits bioactifs de la matière sèche obtenue du barrage comme des antioxydants et des anticancéreux. La première étape d'extraction a été réalisée et les rendements d'extraction ont été calculés. Par contre, l'évaluation de leurs effets antioxydant et anticancéreux n'a pas été effectuée. Nous avons réalisé une synthèse des résultats déjà obtenus pour les deux effets des extraits microalgales.

II. 3.1. Extraction des composés bioactifs :

L'extraction des composés bioactifs est une opération très délicate. D'une part, car elle nécessite une procédure susceptible à décomposer la paroi cellulaire afin d'extraire les composés bioactifs qui sont renfermés dans la cellule et d'autre part, tout en minimisant les risques de les endommager. Pour cela, nous avons utilisé des solvants, qui ont la capacité de pénétrer à la paroi cellulaire, avec une polarité correspondante à la molécule cible.

II. 3. 1. 1. Rendements des extractions :

Les résultats de l'extraction par les différents solvants utilisés (eau, eau/méthanol (20:80 ; v/v), eau/acétone (10:90 ;v/v) et le chloroforme) sont présentés dans le tableau 5. A travers ces résultats d'extraction de la matière sèche des microalgues, nous avons pu constater que le rendement le plus élevé a été noté pour l'extrait aqueux (18,87 % (g/g), cependant, les plus faibles valeurs ont été notées pour l'extrait chloroformique de l'ordre de 1,78 % (g/g). Ces résultats sont en concordance avec ceux trouvés par Kherraf, (2018) et Djamaï, 2019 (Tableau 5).

Il est à noter que le choix de ces solvants était basé sur les résultats de plusieurs travaux précédents qui ont montré que le rendement d'extraction augmente de manière significative avec l'utilisation d'éthanol aqueux ou du méthanol aqueux par rapport à des extractions aux solvants organiques purs (Kherraf, 2018; Mussatto et al., 2011; Vazquez et al., 2008). Chaouche, (2014), a expliqué ce comportement par le fait que la présence de l'eau déstabilise les parois cellulaires ; ce qui va favoriser la pénétration profonde dans la matrice cellulaire, et par conséquent, le solvant va être en liaison avec une quantité plus grande de soluté, favorisant ainsi un bon rendement d'extraction. Aussi, le rendement d'extraction dépend de la polarité et la nature des solvants utilisés (Franco et al., 2008).

Tableau 5: Rendement d'extraction par les différents solvants utilisés

Solvant Utilisé	Rendement d'extraction (%)	
	<i>Nos résultats</i>	<i>Djamai, (2019)</i>
<i>Méthanol</i>	12.01	10.42
<i>Méthanol (80%)</i>	10.23	9.39
<i>Acétone (90%)</i>	6.17	7.59
<i>Chloroforme</i>	1.28	2.01
<i>Eau</i>	19.16	20.74

II. 3.2. Effet antioxydant des extraits obtenus des microalgues :

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme « antioxydant » englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Pokorny et al., 2001).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer *in vitro*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter); ou les radicaux ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'- azinobis-3-ethyl benzothiazoline -6- sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH (Popovici, 2009 ; Ozen, 2009).

Dans notre étude, l'évaluation de l'effet antioxydant des différents extraits obtenus de la matière sèche par macération a été procédée à travers le test DPPH. La présence d'un antioxydant va réduire le radical stable DPPH, ayant une couleur violette profonde en solution, au 1,1-diphényl-2- picrylhydrazyle de couleur jaune (Bouaziz et al, 2016). Malheureusement, nous n'avons pas pu finir le protocole expérimental et par conséquent avoir des résultats. De ce fait, nous allons présenter et interpréter les résultats trouvés par Djamai, (2019) et ceux de Kherraf, et al. (2017).

II. 3. 2.1. Piégeage du radical libre DPPH :

D'après le travail réalisé par Djamai, (2019), l'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la détermination du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH. La stabilité et la linéarité de la solution de DPPH ont été évaluées avant le début du test, dont aucune différence significative n'a été observée dans l'absorbance durant les 2h pour les concentrations testées dans l'obscurité, avec une très bonne linéarité obtenue de l'absorbance par rapport aux différentes concentrations du radical DPPH.

Alors que pour les résultats de Kherraf, et al. (2017), on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente significativement ($p \leq 0,05$) avec l'augmentation de la concentration. Les taux d'inhibition du DPPH enregistrés en présence des différents extraits de la microalgue sont inférieurs à ceux de l'acide ascorbique. Sur la base de ce principe, le pourcentage d'inhibition de DPPH dans ce cas est de $22,37 \pm 3,5\%$ et $12,27 \pm 1,4\%$ pour l'extrait éthanolique et l'extrait méthanolique respectivement avec des concentrations des extraits de 0.5 mg/ml. Ces résultats sont presque identiques à ceux trouvés par Hemalatha et al., (2013) qui ont rapporté que le pourcentage d'inhibition chez les extraits méthanolique de *Chlorella marina* (23,08%) et *Dunaliella salina* (17,66%) et de *Navicula clavata* (15%) et ceux de safafar et al, (2015) qui ont mentionné que le pourcentage d'inhibition chez *Nannochloropsis limnetica* et *Nannochloropsis salina* étaient de 19.44% et 21.26% respectivement avec la même concentration de 0.5mg/ml.

II. 3. 2. 2. Evaluation de l'IC 50 :

La concentration nécessaire pour inhiber 50% de radicale libre de chaque extrait a été déterminée. La capacité antioxydante d'un composé est inversement liée à IC50. Cette valeur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est modérée, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny et al, 2001). La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, a été calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extraits préparés.

Quant aux résultats obtenus par Djamai, (2019), le pouvoir antiradicalaire le plus élevé a été obtenu par la méthode de macération dans l'extrait méthanolique ($IC_{50} = 2,04 \pm$

0,6 mg ES mL⁻¹). Alors que l'extrait aqueux obtenu par la même méthode d'extraction (macération) présente la plus faible activité (IC₅₀ = 11,29 ± 0,6 mg ES mL⁻¹).

L'auteur a rapporté également que pour l'extrait hydrométhanolique des deux méthodes d'extraction utilisées, macération et décoction, la valeur d'IC₅₀ était respectivement ; 4,03 ± 0,9 et 3,47 ± 0,07 mg ES mL⁻¹.

Alors que les valeurs des IC₅₀ des extraits rapporté par Kherraf, et al. (2017), s'échelonnent entre 1.16 ± 0.06 mg/ml pour l'extrait éthanolique et 2.02 ± 0.04 mg/ml pour l'extrait méthanolique comparées à celles de l'acide ascorbique (0,11mg/ml). Maadane et al., (2015) ont indiqué que IC₅₀ de l'extrait éthanolique de *Nannochloropsis gaditana* est de 365 µg/ml comparé à celui de la vitamine C (2.5µg/ml). Ceci est significatif et montre que la microalgue a une capacité modéré à réduire les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres.

Il est à signaler que le temps de réaction et la concentration du DPPH influencent l'activité antioxydante et les paramètres cinétiques des molécules bioactives des extraits de plantes et de microalgues. Dans la réaction avec le radical DPPH, l'activité antioxydante mesurée après 2h de réaction est significativement supérieure à celle mesurée après 30 min (Angela et al., 2014 ; Maadane, 2015).

II. 3. 2. 3. Corrélation des composés bioactifs extraits avec le pouvoir antiradicalaire

Le travail fait par Djamai, (2019), montre une corrélation importante (0,868) pour la majorité des extraits obtenus par macération entre l'activité antiradicalaire et les polyphénols. Alors que, pour les extraits obtenus par décoction, une corrélation moyenne a été observée entre l'activité et les teneurs en polyphénols (0,504) et flavonoïdes (0,469). Ainsi, une faible corrélation a été constatée pour les pigments.

Par contre, d'autres études précédentes ont rapporté des corrélations non significatives entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques et/ou les caroténoïdes (Shetty et Sibi, 2015). Les mêmes résultats ont été présentés par Bulut et al., (2019) indiquant que les composés phénoliques, qui dépendent fortement de la polarité du solvant utilisé, sont les principaux constituants en tant que piègeur des radicaux dans les microalgues, y compris la possibilité de contenir des dérivés de vitamines, d'acides organiques et de complexes métalliques qui peuvent aussi être détecté par le réactif du Folin (Everette et al., 2010).

II. 3. 3. Effet anticancéreux des extraits obtenus des microalgues :

Les métabolites bioactifs retrouvés chez les microalgues sont globalement les phénols, les molécules hétérocycliques, les stérols, les terpènes, les polysaccharides, les peptides et les protéines. Les différents travaux traitant de la mise en évidence de ces composés bioactifs montrent qu'elles sont une source de molécules à activité biologique et notamment anticancéreuses.

De nombreux travaux sont consacrés à l'évaluation de l'activité d'extrait de macroalgues. Notamment, un extrait de l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* induit de manière irréversible l'arrêt de la prolifération cellulaire sur la lignée NSCLC-6 de cancer du poumon. De même, un extrait éthanolique issu de l'algue *Corallina piulifera* induit l'apoptose sur les cellules HeLa (adénocarcinome cervical humain). Des extraits de *Bifurcaria bifurcata*, de *Cystoseira tamaricifolia*, de *Demarestia ligulata* et de *Dictyota dichotoma* présentent des activités cytotoxiques sur trois lignées cellulaires cancéreuses (Pasquet, 2011).

Dans notre travail, nous avons analysé les résultats trouvés par Pasquet, (2011) et les comparer avec ceux trouvés par Balaji et al., (2017). Dans la première étude, la violaxanthine a été isolée et identifiée. Sur la lignée de cancer du sein MCF-7, sa CI50 est de $11,7 \pm 0,2 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ($18,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$). Elle possède une activité antiproliférative. Les résultats ont montré une inhibition de la croissance cellulaire par rapport au témoin après 24 h de croissance pour une concentration de $0,95 \mu\text{g.ml}^{-1}$. A partir de 48h de croissance une inhibition de la croissance est mesurable pour une dose en violaxanthine de $0,09 \mu\text{g.ml}^{-1}$. L'effet antiprolifératif de la violaxanthine augmente en fonction de la concentration.

Quant à l'étude réalisée par Balaji et al., (2017), les propriétés anticancéreuses de l'extrait de *Chlorella vulgaris*, *Desmococcus olivaceus* et *Chlorococcum humicolain* ont été étudiées à partir de la lignée cellulaire de cancer du sein MCF7. Les tests consistaient à compter les cellules viables après coloration au MTT. Les extraits de *Chlorella vulgaris*, *Desmococcus olivaceus* et *Chlorococcum humicola* ont également été testés pour leur capacité d'inhibition de la prolifération dans des lignées cellulaires cancéreuses MCF7. L'extrait de microalgues a présenté des effets cytotoxiques dans des conditions *in vitro* à

des concentrations cliniquement acceptables (valeurs $IC_{50} \leq 50 \text{ mg L}^{-1}$) utilisées par la méthode MTT. L'effet cytotoxique a été déterminé en utilisant des concentrations allant de $10 \mu\text{g}$ à $100 \mu\text{g} / \text{ml}$ pendant 48 heures. Il a été trouvé que la micro algue *Chlorella vulgaris* a inhibé remarquablement la croissance des cellules tumorales (MCF7) par rapport à l'inhibition de constaté chez les extraits de *Desmococcus olivaceus*. L'analyse GC-MS d'extraits de méthanol de *Chlorococcum humicola* montre la présence de cinq composés, qui auraient des propriétés antioxydantes et anticancéreuses.

Conclusion

Conclusion

Dans ce travail, nous avons réalisé une caractérisation biochimique des microalgues qui se forment naturellement dans les eaux de surface de barrage de Bakhadda, situé à la Wilaya de Tiaret. Ainsi qu'une contribution à la valorisation de leurs différents intérêts potentiels. Après la récolte des microalgues et préparation de la matière sèche, leur caractérisation a été réalisée en déterminant la teneur en cendre, en matières grasses, en protéines et en glucides. Les extraits obtenus par la suite, ont été testés en termes du pouvoir antioxydant et anticancéreux.

Les résultats de la composition biochimique des microalgues analysées ont montré un taux d'humidité au voisinage de $1,86 \pm 0,19$ %. Elles renferment un taux de cendres de $9,31 \pm 0,22$; une teneur en matière grasse de $12,95$ g / 100g ; une teneur en protéines de $43,5 \pm 0,18$ g/100g et un taux de glucides au voisinage de $13,47 \pm 0,31$. Il a été constaté que la composition microalgale est conditionnée par la qualité de l'eau de barrage, et elle peut être affectée par le changement des paramètres de culture (Azote, température, pH, CO₂, ..).

Pour les résultats d'extraction de la matière sèche des microalgues, nous avons pu constater que le rendement le plus élevé a été noté pour l'extrait aqueux ($18,87$ % (g/g), cependant, les plus faibles valeurs ont été notées pour l'extrait chloroformique de l'ordre de $1,78$ % (g/g).

Quant au volet valorisation, il est bien connu que les microalgues ont un potentiel important dans une grande variété d'applications puisqu'elles pourraient contenir différents composés bioactifs selon l'espèce microalgale. Dans ce travail, l'évaluation de l'effet antioxydant et anticancéreux n'a pas été effectué. Nous avons réalisé une synthèse des résultats déjà obtenus pour les deux effets des extraits microalgales ; du fait que nombreux travaux sont consacrés à l'évaluation de l'activité d'extrait de macroalgues. La lecture de leurs résultats a significativement montré que les microalgues ont une capacité à réduire les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres. Et grâce à la variété dans leur contenu en molécules bioactives importantes; ont des propriétés antioxydantes confirmées par leurs pouvoirs antiradicalaires, permettant leurs utilisations dans les domaines de la santé et de l'alimentation. Ainsi, Il a été constaté que leurs extraits ont pu inhiber remarquablement la croissance des cellules tumorales.

Conclusion

Les résultats obtenus à l'issue de ce travail confirment l'intérêt d'étudier les différentes possibilités de la valorisation des microalgues des eaux douces. D'une part, pour réduire leur quantité énorme et par conséquent leur impact négatif sur l'environnement aquatique. Et d'autre part, pour les utiliser comme sources des produits d'intérêt dans les différents secteurs économiques.

Des études supplémentaires sont nécessaires pour Isoler les molécules contenues dans les extraits actifs des microalgues d'eaux douces afin de les tester *in vivo*, sur différents modèles biologiques, dans le but de chercher des applications possibles dans les domaines de la santé et de l'agro-alimentaire.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- 📖 Albalasmeh, A. a, Berhe, A. A., & Ghezzehei, T. a. (2013). A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydr Polym*, 97(2), 253–261.
- 📖 Alcaine, A.A. (2010). Biodiesel from microalgae. Final degree project. Royal School of Technology Kungliga Tekniska Högskolan, Stockholm, Sweden.
- 📖 Angela,F.,Maria,G,M., Emanuela,A.,Antonia,B.,Daniele,S., (2014). Reaction time and DPPH concentration influence antioxidant activity and kinetic parameters of bioactive molecules and plant extracts in the reaction with DPPH radical.*J.Food Compos.Anal.*35, 112-119.
- 📖 AOAC (1990) . Official methods of analysis. Washington, DC, USA: Association of official analytical chemists.
- 📖 AOAC (1995) . Official methods of analysis. Washington, DC, USA: Association of official analytical chemists.
- 📖 Balaji M, Thamilvanan D, Vinayagam SC and Balakumar BS, (2017). Anticancer, antioxidant activity and GC-MS analysis of selected micro algal members of chlorophyceae. *Int J Pharm Sci Res*; 8(8): 3302-14.doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(8).3302-14.
- 📖 Becker, W. (2004). "Microalgae in human and animal nutrition." *Handbook of microalgal culture*. Blackwell; Oxford
- 📖 Becker, W. (2007). Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* 25, 207–210.
- 📖 Bouaziz, F.; Koubaa, M.; Barba, F.J.; Roohinejad, S.; Chaabouni, SE.(2016). Antioxidant properties of water-soluble gum from flaxseed hulls. *Antioxidants*, 5, 26.
- 📖 Bourrelly P., (1985). "Les algues d'eau douce", Vol III: Les algues bleus et rouges, Boubée éd. Rev., 606 p.
- 📖 Bouzid-Lagha, S., et Djelita, B. (2012). Etude du phénomène d'eutrophisation dans le

Références Bibliographiques

- Barrage de Hammam Boughrara (Wilaya de Tlemcen, Algérie). *Hydrological Sciences Journal*, 57(1), 186–201. <https://doi.org/10.1080/02626667.2011.634417>
- 📖 Brennan, L. et Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (567)
- 📖 Bulut, O., Akın, D., Sönmez, Ç., Öktem, A., Yücel, M., & Öktem, H. A. (2019). Phenolic compounds, carotenoids, and antioxidant capacities of a thermo-tolerant *Scenedesmus* sp. (Chlorophyta) extracted with different solvents. *Journal of Applied Phycology*, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1726-5>
- 📖 Camacho Rodríguez J., Cerón-García M.C., Fernández-Sevilla J.M, González López C.V,&Molina-Grima E.(2009). Effective and low-cost culture media for *Nannocloropsis gaditana* & *Isochrysis galbana* biomass optimized for aquaculture. Chemical Engineering Department, University of Almería, Almería, Spain.
- 📖 Carlsson, A.S., van Beilen, J.B., Möller, R., Clayton, D (2007). Micro-and macroalgae: utility for industrial applications, In: Bowles D, editor. *Outputs from the EPOBIO project*. UK: CPL Press. pp. 82.
- 📖 Chaouche,T(2014). Contribution à l'étude des activités anti oxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. Thèse de doctorat. Université Abou-Bakr-Belkaid, Tlemecen, Algérie.
- 📖 Chen, C.-Y., Yeh, K.-L., Aisyah, R., Lee, D.-J., Chang, J.-S., (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology* 102, 71–81.
- 📖 Cho, H.-S., Oh, Y.-K., Park, S.-C., Lee, J.-W., Park, J.-Y., (2013). Effects of enzymatic hydrolysis on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renewable Energy* 54, 156–160.
- 📖 Dejoye Tanzi, C. (2013). Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. France

Références Bibliographiques

- 📖 Djamai, W. (2019). Valorisation des microalgues par extraction et séparation des molécules bioactifs. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen. Faculté des sciences, Algérie.
- 📖 Everette, J. D., Bryant, Q. M., Green, A. M., Abbey, Y. A., Wangila, G. W., & Walker, R. B. (2010). Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139–8144. <https://doi.org/10.1021/jf1005935>
- 📖 Filali. R. (2012). Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂, Thèse doctorat, Ecole Doctorale des Sciences et Technologies de l'Information des Télécommunications et des Systèmes, Paris, p. 17.
- 📖 Findeling. A, (2011) [Veolia Environnement]. Algues, filières du futur Édition Adebitech - Romainville 182p. 2011.
- 📖 Franco, D.; Sineiro, J.; Rubilar, M.; Sánchez, M.; Jerez, M.; Pinelo, M.; Costoya, N.; Núñez, M.J.(2008). Polyphenols from plant materials: Extraction and antioxidant power. *Electron J. Environ. Agric. Food Chem.* 7, 3210–3216.
- 📖 Gana N., (2014). Détermination de certains paramètres biochimiques urinaires chez le rat wistar recevant un régime cafeteria supplémenté en algues vertes. Mémoire Mastère physiopathologie cellulaire. Université Abou Bekr Belkadi Tlemcen.41p.
- 📖 Gordillo, F.J.L.; Jiménez, C.; Figueroa, F.L.; Niell, F.X. (1998). Effects of increased atmospheric CO₂ and N supply on photosynthesis, growth and cell composition of the cyanobacterium *Spirulina platensis* (Arthrospira). *J. Appl. Phycol.* 10, 461–469.
- 📖 Hemalatha A, Giriya K, Parthiban C, Saranya C and Anantharama P. (2013). Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*. *Advances in Applied Science Research*, 4(5): 151-157
- 📖 IDEALG., (2014). Etude de la consommation des algues alimentaires en France. AGROCAMPUS OUEST. France.71p.
- 📖 Julie, P. (2011) Julie PERSON [Trimatec] Livre turquoise, Algues, fihères du futur.

Références Bibliographiques

Livre turquoise Édition Adebitech - Romainville 182p.

- 📖 Kherraf A. (2018). Caractérisation physicochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et antiinflammatoire de la microalgue *Nannochloropsis gaditana*. Thèse de doctorat. Université Djillali Liabes faculté des sciences de la nature et de la vie Sidi bel Abbes, 74.
- 📖 Kherraf, A., Tehami, W., Boufeldja, W., Yahla, I., Dra, G. A., Mansour, I. F. Z., & Benali, M. (2017). Determination of the nutritional and functional metabolites of *Nannochloropsis gaditana* produced in Algeria and evaluation of its antioxidant activity. *South Asian Journal of Experimental Biology*, (7), 17–20.
- 📖 Kim, Y.-H., Park, S., Kim, M.H., Choi, Y.-K., Yang, Y.-H., Kim, H.J., Kim, H., Kim, H.-S., Song, K.-G., Lee, S.H., (2013). Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO₄]. *Biomass and Bioenergy* 56, 99–103.
- 📖 Koberg, M., Cohen, M., Ben-Amotz, A., Gedanken, A., (2011). Biodiesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation. *Bioresource Technology* 102, 4265–4269.
- 📖 Larrauri, A., & Saura-calixto, F. (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 270, 270–276.
- 📖 Lepine, O. (2011). [Alpha Biotech], Algues, filières du futur. Livre turquoise. Édition Adebitech - Romainville 182p. 2011.
- 📖 López CV, García Mdel C, Fernández FG, Bustos CS, Chisti Y, Sevilla JM.(2010). Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. *Bioresour Technol.*101(19):7587-91.
- 📖 Maadane A, Merghoub N, Ainane T, El Arroussi H, Benhima R, Amzazi S, Bakri Y, Wahby I.(2015).Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufa profiles, carotenoids and phenolic content. *Journal of Biotechnology* 215:13
- 📖 Mathieu, D. (2011) [CEVA] livre turquoise, Algues, filières du futur Édition Adebitech - Romainville 182p. 2011.

Références Bibliographiques

- 📖 Mitchell, R. (1974). Introduction to Environmental Microbiology. s.l.: Prentice-Hall.
- 📖 Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2),55-63.
- 📖 Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA, (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83(15): 173-179.
- 📖 Ozen T., Demirtas I ., Aksit H. (2011). Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*. *Food Chem*, (124), 58-64p.
- 📖 Park, J.B.K., Craggs, R.J., Shilton, A.N., (2011). Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102, 35–42.
- 📖 Pasquet, V. (2011). Recherche bioguidée de molécules anticancéreuse issues de microalgues marines. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle.
- 📖 Person J. [Trimatec] (2010). Algues, filières du futur. Livre turquoise.
- 📖 Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M (2001). Antioxidants in food, Practical applications. Woodhead Publishing Limited.
- 📖 Popovici C., Ilonka S ., Bartek T.,(2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH *Revue de génie industriel*,(4), 25-39p.
- 📖 Pulz, O., Gross, W.(2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. Minireview, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Volume 65, Number 6, pp. 635648.
- 📖 Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., Bux, F., (2011). Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88, 3411–3424.

Références Bibliographiques

- 📖 Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, López-Hernández J, Paseiro-Losada P (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food Chem.* 85: 439–444
- 📖 Sassi, J-F (2011) [CEVA], Algues, filières du futur. Livre turquoise Édition Adebitech - Romainville 182p. 2011.
- 📖 Serbh boumediene, (2011). Etude et valorisation des sidements de dragage de barrage de Bakhada Tiaret. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen Faculté de Technologie.69.
- 📖 Sialve B , Steyer J-P., (2013). Les microalgues, promesses et défis. *Innovations agronomiques*. vol.26. (25-30) :25-39.
- 📖 Sialve, B., & Steyer, J.-P. (2013). Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques*, 26, 25–39. Retrieved from <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01137072/>
- 📖 Singh, G., & Patidar, S. K. (2018). Microalgae harvesting techniques: A review. *Journal of Environmental Management*, 217, 499–508.
- 📖 Souissi, M., Chaibi, R., Bouallag, C ., Melizi, M ., Bensouilah, M .(2004). Les Cyanobacteries D'un Plan D'eau Douce (Le Lac Oubeira- El Kala). Inventaire Et Repartition Spatiale, ,N 22,p 38-42
- 📖 Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., (2006). Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101, 87–96.
- 📖 Sumi, Y (2009). Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization, Life Science Research Unit, quarterly review No.34.
- 📖 Trivedi, J., Aila, M., Bangwal, D. P., Kaul, S., & Garg, M. O. (2015). Algae based biorefinery - How to make sense? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Pergamon.<https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.03.052>
- 📖 Vazquez G, Fontenla E, Santos J, Freire MS, Gonzalez-Alvarez J, Antorrena G, (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial crops and products*,

Références Bibliographiques

28(3): 279-285.

- 📖 Wijesekara I, Pangestuti R, Kim S-K.(2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Carbohydr Polym. 84:14–21.

Webographie:

📖 [http:// www.botany.natur.cuni.cz/algo/CAUP/H1955_Chlorella_vulgaris.htm](http://www.botany.natur.cuni.cz/algo/CAUP/H1955_Chlorella_vulgaris.htm)

📖 [http:// www.ccala.butbn.cas.cz/en](http://www.ccala.butbn.cas.cz/en)

📖 [http:// www.protist.i.hosei.ac.jp](http://www.protist.i.hosei.ac.jp)

📖 <http://www.dr-ralf-wagner.de>

Annexes

Annexe 1

Microalgues

1. DEFINITION ET ORIGINE DES MICROALGUES

Le terme microalgue comprend par définition les organismes microscopiques photosynthétiques uni- et oligo-cellulaire, avec une taille qui varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres, à la base de la chaîne alimentaire et producteurs primaires d'oxygène. Leur existence et plus précisément les cyanobactéries, remontent à plus de 3,4 milliards d'années. Ces micro-organismes, dénommées également phytoplancton, produits rapidement à partir de l'énergie solaire, du dioxyde de carbone et des nutriments présents dans divers habitats aquatiques (eau douce, saumâtre et salé), ou même terrestres (le sol ou sur le tronc des arbres). Cette biomasse reconnue ubiquistes, c'est-à-dire qu'ils croissent dans différents écosystèmes démontrant un haut degré de biodiversité, une grande variété de formes et conséquemment une multitude de voies métaboliques. Il a été considéré comme une alternative prometteuse, dite biomasse de la troisième génération .

2. DIVERSITE

Les microalgues représentent une immense biodiversité, ensemble très hétérogène en terme de morphologie et de physiologie, où il est estimé qu'il existe plus de 50 000 espèces parmi lesquelles environ 40 000 ont été étudiées et analysées. Ce sont des cellules simples qui sont classées comme procaryotes (microalgues bleues ou cyanobactéries) ou eucaryotes (microalgues vertes, rouges et brunes). Ce classement se fait à la base de leurs propriétés et caractéristiques morphologiques.

2.1 Les procaryotes

Les microalgues procaryotes sont des organismes unicellulaires dépourvues de noyau (une structure bactérienne classique), où les chromosomes se trouvent dans le cytoplasme, entourés par des membranes lamellaires qui contiennent les pigments photosynthétiques.

- Les cyanobactéries se caractérisent par leurs structures cellulaires procaryotes, dont la présence de la chlorophylle a et des pigments hydrosolubles (les phycobilines rouge et bleu) les distinguent des bactéries. Ce groupe représente éventuellement le groupe photosynthétique le plus important sur terre par la présence de plus de 6 000 espèces, dont la *Spirulina* et la *Nostoc* sont parmi les espèces les plus connues, d'une coloration bleu-verte et d'une taille d'environ 10 µm. La reproduction des cyanobactéries est connue végétative (asexuée) et leurs croissance peut être d'une manière naturelle sur les surfaces d'eau et également dans le sol

avec la présence de la lumière (la seule exigence) qui est considérée comme un paramètre indispensable pour son développement. A l'absence de cette dernière, ces microorganismes font en sorte d'emmagasiner principalement leur énergie sous forme de lipide ou d'amidon. De ce fait, en plus de leur importance comme producteurs primaires d'oxygène, les cyanobactéries sont une source de métabolite primaire.

2.2 Les eucaryotes

Les microalgues eucaryotes sont des organismes uni ou pluricellulaires qui possèdent une structure végétale classique compartimenté contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires y compris les chloroplastes qui renferment les pigments photosynthétiques.

- Les Chlorophycées sont des microalgues vertes, la plus grande classe variée de la division des chlorophyta, faciles à être cultivé dans les eaux douces ou marines. Elles sont unicellulaires ou pluricellulaires avec généralement une petite taille (<20µm), dont la paroi cellulaire peut être épaisse (ex : *Chlamydomonas*) ou absente et entourée seulement par la membrane plasmique (ex : *Dunaliella*). Chez ces microorganismes, l'amidon est considéré comme la substance de réserve fondamentale ainsi que les lipides. En outre, elles renferment de la chlorophylle a et b, avec les principaux caroténoïdes (β-carotène, lutéine, violaxanthine) en plus des caroténoïdes mineurs (zéaxanthine) identique à celle des plantes supérieures, par conséquent, elles ont été commercialisées à diverses applications tel qu'un additif alimentaire diététique, colorant alimentaire...etc. - Les Diatomées forment une classe des microalgues très répandues dans tous les types d'habitats, caractérisées par leurs structures eucaryotes et unicellulaires qui mesurent généralement de 2 à 200 µm avec certaines atteignant quelques millimètres (1 à 3 mm), ces espèces sont d'ailleurs reconnues par une coquille en silice (frustule) enveloppant la cellule, ainsi que par la présence de chlorophylle a et c et des pigments accessoires comme le β-carotène et la fucoxanthine dans des chloroplastes. En outre, il est bien connu que ces phytoplanctons sont riches en polysaccharide (chrysolaminaran) et les lipides plus particulièrement les triglycérides comme composant majeurs, qui constituent une réserve énergétique très importante .

- Les Euglenophycées sont une classe de flagellés de l'embranchement des Euglenophyta, des algues vertes unicellulaires entourées d'une pellicule de bande protéique autour de la cellule. Leur croissance peut être généralement sur les eaux douces et très rarement dans les eaux marines et saumâtres, comme elles ont tendance à se développer dans de petits bassins enrichis en composés organiques, avec un mode de culture autotrophe ou hétérotrophe

dépendant de l'espèce microalgale. L'aliment de réserves de ces microorganismes est bien des glucides ou de l'amidon, le chrysolaminarine et plus particulièrement le paramylon qui est un polyoside de réserve spécifique des Euglenophyta. Les Euglenophycées semblent être aussi une source riche en pigments et cela par la présence des chlorophylles a et b dans leurs chloroplastes en plus des caroténoïdes et des xanthophylles.

3. COMPOSITION BIOCHIMIQUES DES MICRO-ALGUES & INTERET POTENTIEL

Les microalgues ont été reconnues comme une matière première, dite de troisième génération, non seulement parce qu'elles éliminent le dioxyde de carbone de l'atmosphère, mais aussi parce qu'elle est une source inépuisable d'une variété de bioproduit photosynthétiques, sous diverses forme, tels que des composants cellulaires ou des matériaux de stockage, dont les principales biomolécules (Tableau.1) comprennent les protéines, les polysaccharides ainsi que les lipides. Par conséquent, ils ont un potentiel énorme dans une grande variété d'applications. C'est grâce à la teneur importante en protéines, qu'en 1940, des chercheurs se sont intéressés aux microalgues comme aliments, alors qu'une cyanobactérie avait été une première à être utilisée comme nourriture en Chine et avant 2000 ans comme aliment aussi pour survivre une famine .

**Tableau: Composition générale de différentes espèces microalgale
(% de matière sèche) (Trivedi et al., 2015)**

Espèce	Protéine	Glucide	Lipide
<i>Anabaenacylindrica</i>	43–56	25–30	4–7
<i>Aphanizomenonflos-aquae</i>	62	23	3
<i>Chlamydomonas rheinhardii</i>	48	17	21
<i>Chlorellapyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Chlorella vulgaris</i>	51–58	12–17	14–22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Dunaliellabioculata</i>	49	4	8
<i>Euglena gracilis</i>	39–61	14–18	14–20
<i>Porphyridiumcruentum</i>	28–39	40–57	9–14
<i>Prymnesiumparvum</i>	28–45	25–33	22–38
<i>Scenedesmusobliquus</i>	50–56	10–17	12–14
<i>Scenedesmusquadricauda</i>	47	-	1,9
<i>Scenedesmusdimorphus</i>	8–18	21–52	16–40
<i>Spirogyrasp.</i>	6–20	33–64	11–21
<i>Arthrospira maxima</i>	60–71	13–16	6–7
<i>Spirulinaplatensis</i>	46–63	8–14	4–9
<i>Synechococcussp.</i>	63	15	11
<i>Tetraselmismaculate</i>	52	15	3

4. Les principales voies de valorisation des micro-algues

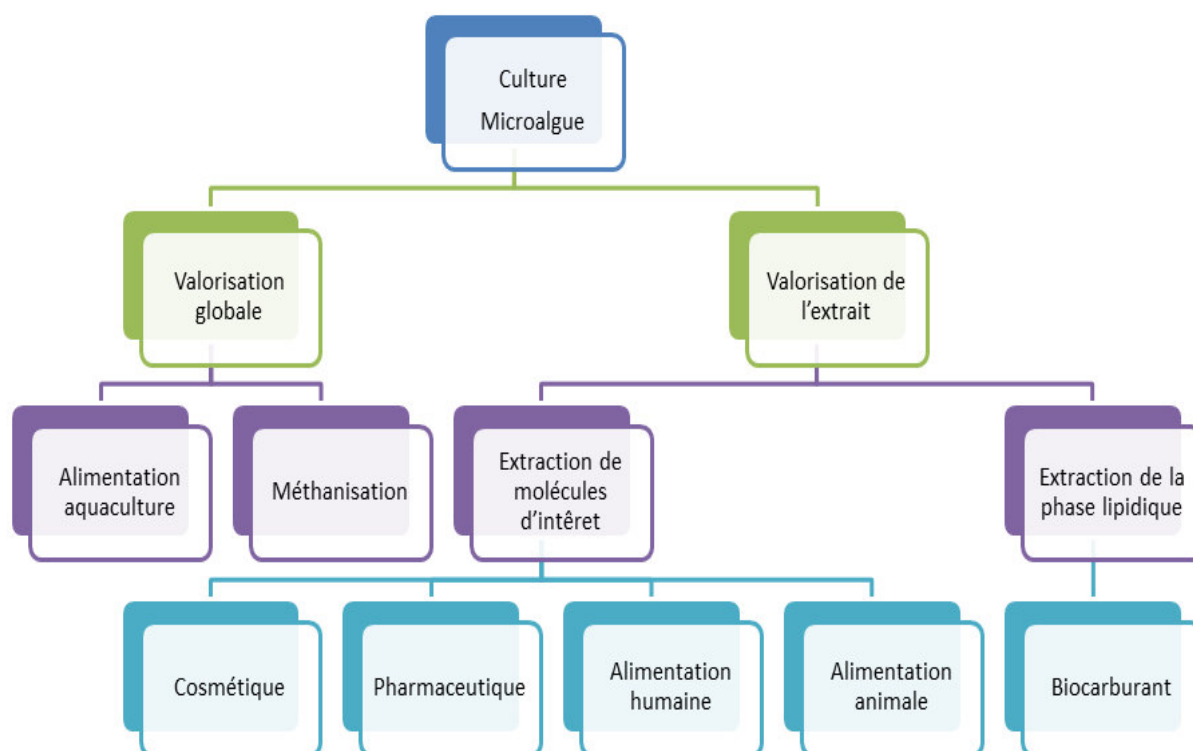


Tableau : Une sélection d'espèces de micro-algues avec leurs produits et domaines d'application (Pulz and Gross, 2004)

Espèces	Produits	Domaines d'application
<i>Spirulina</i> Cyanobactérie	Phycocyanine Biomasse	Aliments naturels , Cosmétique
<i>Chlorella vulgaris</i> Chlorophycée	Biomasse	Aliments naturels Suppléments alimentaires Substituts alimentaires
<i>Dunaliella salina</i> Chlorophycée	β-carotène	
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Astaxanthine	
<i>Odontella aurita</i> Bacillariophycée	AGPI	Pharmaceutique Cosmétique
<i>Porphyridium cruentum</i> Rhodophycée	Polysaccharides	Aliments pour enfants
<i>Isochrysis galban</i> Chlorophycée	AGPI	Nutrition animale
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> Bacillariophycée	Lipides AGPI	Nutrition Production de carburants
<i>Lyngbya majuscula</i> Cyanobactérie	Immunomodulateur	Pharmaceutique Nutrition
<i>Muriellopsis sp.</i> Chlorophycée	Lutéine	Aliments naturels Suppléments alimentaires