

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieure 013/2002/*  
*et de la Recherche Scientifique*

Centre Universitaire  
de JIJEL  
Institut de Biologie  
Département de biochimie.



*Mémoire de fin d'études*  
*en vue de l'obtention du diplôme d'étude*  
*Supérieure en Biologie*

## THEME

*Extraction des Substances Bioactives*  
*à partir d'Algues Marines et Essai de*  
*l'Evaluation de leurs Activités sur*  
*Différentes Souches Bactériennes*

Encadreur :

Mme:  
Roula Sagia



Réalisé par :

KEHAL Nadira  
AGUIS Saoussen  
AISSANI Fouzia



- Promotion 2002 -

# Remerciement



*Avant tous nous remercions dieu le tout puissant et le prient de nous accorder tout au long de notre future profession volonté et persévérance, mais surtout foi et tolérance pour pouvoir mener dans mesure du possible cette profession vers la noblesse qui lui à toujours été accordé.*

*Nous tenons en particulier à adresser nos vives remerciements à Mme : Roula Sagia pour son aide et sa patience et pour Dr : Lahouel Mesbah pour son aide et consiste.*

*Nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire surtout :*

*Bessam, Yacine, Ammar, Daouya, Mounir, Jarek, Zakaria, Fatima, Hanya, Ziad, Nadjiba.*

*Ces quelques lignes ne sont qu'un humble hommage à tous ces merveilleux gens.*

*Fouzia, Saoussan, Nadira.*

# Sommaire

Introduction . . . . . 01

## CHAPITRE I : Analyse bibliographique :

1- Biologie des algues marines. . . . . 02  
a- Généralités sur les algues marines. . . . . 02  
b- Nutrition et métabolisme des algues marines.- . . . . 02  
c- Les différentes formes d'existence des algues marines.. . . . 03

2- Classification des algues marines. . . . . 04

3- Caractères biochimiques des algues marines. . . . . 06

4-Propriétés biochimiques des algues marines. . . . . 06

5- Utilisation des algues marines. . . . . 08

## CHAPITRE II : Matériels et méthodes :

1- Matériels utilisés. . . . . 11

2- L'extraction. . . . . 13

3- Les étapes d'extraction. . . . . 13

A- Collection des échantillons. . . . . 13

B- Dessiccation. . . . . 13

C- Pulvérisation. . . . . 13

D- Dissolution. . . . . 13

## CHAPITRE III : Résultats et discussion :

1- Résultats de l'extraction . . . . . 16

2- Activité de l'extrait d'algues marines sur différentes souches bactériennes . . . 17

1- Méthode d'expérimentation. . . . . 17

2- Résultats et discussion. . . . . 19

Conclusion. . . . . 26

Références . . . . . 27

# Introduction

## Introduction :

La recherche moderne montre que l'action des plantes médicinales est due à quelques constituants élaborés par la plante, nous les appelons « substances bio-actives » (C).

Une plante est dite médicinale, lorsque au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (7).

Parmi ces plantes, les algues marines que l'on peut voir sur les rives des fleuves, les lacs ou dans la mer, flottantes sur l'eau ou immergées (C).

Les algues marines sont exploitées depuis longtemps dans l'alimentation et la médecine traditionnelle chinoise sous forme naturelle (3).

L'utilisation des extraits des algues marines est un phénomène nouveau grâce à son intérêt dans différents domaines et la facilité d'extraction de leurs substances bio-actives (C).

C'est dans ce cadre, que nous nous sommes surtout intéressés à l'extraction des substances bio-actives de deux types d'algues marines. Nous avons aussi essayé de tester l'action de ces substances extractives sur différentes souches bactériennes par le simple test de l'antibio-gramme.

## **I- Analyse bibliographique :**

### **1- Biologie des algues marines :**

#### **a- Généralités sur les algues marines :**

La biomasse principale des plantes aquatiques est constituée par les algues marines. Ces dernières constituent presque seules la flore marine(2).

L'algue est une végétale chlorophyllien, sans racines, ni vaisseaux, qui vit dans l'eau de mer, dans l'eau douce, ou au moins dans l'air humide (12).

La plupart des algues marines sont des organismes unicellulaires et phototrophes. Quelques unes ont une morphologie filamenteuse ou membranaire, de nombreuses espèces sont flagellées (6).

Les cellules contiennent un noyau (uni ou multiple) des chloroplastes qui diffèrent en structure et en pigments, des mitochondries, des ribosomes et appareil de golgi. Une paroi cellulaire chez certaines groupes et chez d'autres la cellule est protégée par une couche protéino-aqueuse flexible accordée à la membrane plasmique (13).

La reproduction chez les algues marines se fait en deux types asexué et sexué (1) (6) (a).

#### **b- Nutrition et métabolisme des algues marines :**

Les algues marines se distribuent dans l'eau et dans les régions humides. Ce sont des plantes divisées en protophytes (algues bleu) et thallophytes (brunes, rouges et vertes) (3).

On peut résumer les caractéristiques des algues marines dans les points suivants :

##### **b-1- Les pigments lumineux et photosynthétiques :**

La lumière est indispensable à la photosynthèse. Le taux de luminosité est souvent adéquat, mais dans un milieu aquatique ; la lumière est rapidement absorbée.

Les algues aquatiques possèdent trois chlorophylles évoluées, chlorophylle a, b et c et un grand nombre de pigments accessoires leurs permettant de croître à des profondeurs plus importantes (13).

##### **b-2- L'oxygène et le dioxyde de carbone :**

Dans le milieu aquatique, la solubilité d'O<sub>2</sub> diminue avec la température et les taux de CO<sub>2</sub> croissant. La disponibilité d'O<sub>2</sub> est donc limitée dans les eaux chaudes (13).

##### **b-3 Les besoins en azote :**

Les algues ne peuvent fixer l'azote et doivent pour cela l'obtenir à partir d'une forme

#### **b-4 Les macro/micro nutriments et les facteurs de croissance :**

La plupart des nutriments sont en excès dans le milieu aquatique ; cependant, le phosphate et le silice sont faiblement solubles dans l'eau et limitent souvent la croissance dans l'eau douce.

Certaines algues sont autotrophes, mais nécessitent des apports externes en acides aminés, en acide nucléique et autres facteurs de croissance (13).

#### **b-5 L'eau, le PH et la température optimaux :**

Les algues survivent dans des habitats humides ou dans l'eau. Certaines algues ne sont pas spécialisées et peuvent habiter dans des sources chaudes et extrêmement acides (quelques-unes vivent dans 80°C et 2.5% de salinité (3)). Alors que d'autres peuvent vivre à des températures au-dessous de 0°C(13).

#### **b-6 L'osmolarité :**

Les algues présentes dans les eaux douces, ont une osmolarité interne très différente de celle du milieu extérieur, et doivent posséder une paroi cellulaire rigide ou une vacuole pulsatile pour compenser l'entrée d'eau.

Les algues marines sont grossièrement isotoniques à l'eau de mer et souffrent moins de ce problème(13).

#### **b-7 Toxicité :**

Certaines algues marines sont toxiques. Les toxines peuvent directement affecter les poissons et les mollusques si elles sont consommées par des animaux supérieurs.

Elles peuvent avoir des effets sévères par fois fatals chez les consommateurs(10) (13).

### **C- Les différentes formes d'existence des algues marines.**

#### **C-1 Le plancton :**

Le plancton est un ensemble des êtres microscopiques ou de petite taille en suspension dans la mer ou l'eau douce (12), qui se déplacent librement dans l'eau, et lui confère une certaine couleur (3).

Comme ils sont capables d'effectuer la photosynthèse, en synthétisant des produits riches en protéines (60 %) hydrocarbures (20 %) vitamines surtout la vitamine C et aussi les sels minéraux (2).

Le plancton constitue une source alimentaire pour les poissons dits planctonivores ou planctophages (12).

### **C-2 Le benthos :**

Est un ensemble des êtres qui vivent sur le fond de la mer ou des eaux douces(12). Ce sont des algues fixées sur des rochers ou soutenues sur des supports.

Plusieurs facteurs influencent le benthos tels que : la nature de support, la température, le pH, les sels minéraux, la lumière, les mouvements des vagues et les flottements (flux et reflux) (2).

### **C-3 Les sargasses :**

Ce sont des algues flottantes dont l'accumulation forme une véritable prairie ou pondent les aiguilles(12).

Elles sont situées dans les eaux chaudes, douces et caractérisées par leur grand volume.

### **C-4 Les algues flottantes au bord de la mer :**

Comportent plusieurs genres, flottantes à la surface de l'eau, certaines sont fixées sur des supports et deviennent flottantes (3).

### **2- Classification des algues marines :**

Les algues constituent une division particulièrement hétérogène, représentée par des organismes dont les caractéristiques sont extrêmement variables telles que : la profondeur, la localisation, l'intensité et la qualité de la lumière, la température de l'eau et le degré de tranquillité des eaux.

Pour cette raison, elles sont regroupées en classes différentes. Cette classification est basée sur la nature de leurs pigments, de la substance de réserve qu'elle accumule et de la structure de leur paroi cellulaire, bien qu'on les appelle algues. Les algues bleues ou cyanobactéries ne font pas partie de cette division car leur structure cellulaire est la structure typique des procaryotes(6).



**Tableau n I : classification des algues marines. (6), (7), (c)**

Algue vertes	Algue rouge	Algue brunes	Diatomees chryssphy-ceés et xanthopycées	Dino flagelles	Euglenophycees	
Couche interne de cellulose , couche externe de pectine rigide	Couche interne de cellulose , couche externe de pectine et de polysaccharides mucilagineux rigide	Couche interne de cellulose , couche externe de pectine et d'une substance gélatineuse ( acide algenique ) rigide	Pectine imprégnée de silice rigide	Cellulose, généralement rigide mais avec des ouvertures ou les pseudopodes peuvent passer	Pas de paroi cellulaire, la cellule est donc flexible	<b>Paroi cellulaire</b>
Chlorophylle a , Chlorophylle b , Carotène , $\beta$ -Carotène, quelques Xanthophylle .	Chlorophylle a, Chlorophylle d n- Carotène , quelques Xanthophylle phycobilines	Chlorophylle a Chlorophylle c $\beta$ -Carotène, fucoxantine et autre xanthophylles	Chlorophylle a, chlorophylle c (seulement chez les diatomè) $\beta$ -Carotène, divers xanthoophylles	Chlorophylle a. $\beta$ -Carotène n-Carotène divers xanthophylles.	Chlorophylle a. Chlorophylle b $\alpha$ -Carotène, $\beta$ -Carotène, autre Carotène, de divers xanthophylles.	<b>Pigment</b>
Surtout de l'amidon ( un polysaccharide insoluble ) Mais un peu de lipide	Amidon mais dans type chimique unique	Courte chaîne de polysaccharides (soluble) tels que laminarine et un alcool de mannitol	Lipide	Amidon	Paramydon, un polysaccharide insoluble	<b>Composant de la reserve energetique</b>
Non	non	non	non	Oui	Oui	<b>Capable de nutrition heterotrophe</b>
Algue filamenteuse appelant des plantes fines couche de cellules , forme colonies , cellules géantes unicellulaire	Algue filamenteuse rappelant des plantes mais pas très grandes Forme, couche de cellule , unicellulaire	Algues filamenteuses rappelant des plantes dont la plus grand algues connue, la sargasse	unicellulaire colonies lâches, petites formes filamenteuse (seulement certains chryssophycées)	Unicellulaire, colonie lâches	Seulement des unicellulaires	<b>Type de structure</b>
Deux égale	Ils n'existent pas	Deux illégales	Ils n'existent pas ou deux illégales	Deux	Un – trois (1-3) égales	<b>Nombre de flagelles</b>
Eaux doux Eaux de mer	Eau de mer Eaux doux ( des fois)	Eaux de mer	Eaux doux, eaux de mer	eaux	Eaux doux Eaux de mer	<b>Endroit de vie</b>

### 3- Caractères biochimiques des algues marines:

La structure chimique des algues marines varie selon leur croissance, leur développement selon les saisons.

Il est observable que les constituants principaux sont transmis dans l'eau de mer en pourcentage différent à savoir les genres d'algues.

Les algues marines comportent 80% ou plus de leur poids sec riche en sels minéraux, vitamines, sucre, protéines, lipides et antibiotiques (3).

Les principaux constituants chimiques des algues marines sont résumés dans le tableau n°II.

**TableauII: Les constituants chimiques des algues marines (c).**

<b>Matières organiques (70%)</b>	<b>Matières minérales (20%)</b>
<p><b>Glucides: (57%)</b> Notamment: Acide alginique, fucosane, carraghenanes, gelose, lammarane, manital, cellulose.</p> <p><b>Lipides: (4 %)</b></p> <p><b>Protides: (9 %)</b> Notamment acides amines, acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, asparagine, cystine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phénylalanine, proline, serine, threonine, thryptophane, tyrosine, valine.</p> <p><b>Vitamines:</b> A (retinol), B1 (thiamine), B2 (riboflavines), B3 ou PP(nicotinamide), B6 (Pyro- doxine), B12 (cobalamine), C(acide ascorbique), D3 (cholecal ciferal), E (tocoferel) K (phyloquinone)</p> <p><b>Phytohormones ou auxines:</b> Hormones de croissance et de développement chez les végétaux.</p> <p><b>Pigments:</b> Chlorophylle, Carotène, Xanthophyl, phycobiline</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En assez grande quantité(macroelements) classes par ordre décroissent de teneur: potassium (k), chlore (cl), sodium (Na), calcium (ca), magnésium (Mg), soufre (s), phosphore (p), iode (I), fer (fe), cuivre(Cu), manganèse(Mn).</li> <li>• En faible quantité: (oligo- element) classes par ordre alphabétique: Aluminium(Al), Antimoine, Argent(Ag), arsenic. Baryum, Béryllium, Bismuth, Bore, Brome(Br), Cadmium, Cérium, Chrome, Cobalt, étain, Fluor, Gallium, Germanium,, Lithium, Mercure, Molybdèn, Nickel(Ni), or, Plomb(Pb), Rubidium, Sélénium, Silicium, Strontium, Thallium, Titane, Vanadium, Zinc(Zn).</li> </ul>

### 4-Les propriétés biochimiques des algues marines:

Les algues marines comportent des substances métaboliques secondaires et des constituants doués d'activités biologiques efficaces.

Les algues marines sont exploitées depuis longtemps à des fins thérapeutiques, quelques unes utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise dans la thérapie du cancer.

Il est clair que les algues marines ont un rôle notable dans le domaine médicale, elles ont des effets sur les tumeurs, la coagulation sanguine, la fibrinolyse. De plus leurs effets sur la stimulation immunologique contre les virus, les microbes, les toxines nerveuses, hépatiques et la stimulation cardiaque (3).

#### 4-1-Les anti-tumoraux:

La recherche montre clairement l'influence des différents extraits à partir d'algues marines sur les tumeurs. Ce sont les polysaccharides sulfuriques ayant une activité biologique.

On peut citer comme exemples:

- *Ecklonia Cava*.
- *Monostroma nitidum*.
- *Macrocystis purifeca* qui paraît un effet inhibiteur sur deux types tumoraux.
- \* P-388 lymphocytic leukemia.
- \* Ehrlichxité carcimona.
- *Stypodium zonale* qui contient les stypodium, ces derniers sont des inhibiteurs de la division cellulaire chez les foetus du urchin (animal marin). Donc les stypodium possède une activité qui ressemble à celle de la colchicine.
- *Laminaria ruliguera* qui possède le fucidon qui intervient dans la therapie des tumeurs.
- les algues brunes qui contiennent le fucan ( polysaccharide) qui possède un rôle dans l'inhibition du développement des cellules tumorales(3) , (c).

#### 4-2 - la coagulation :

la structure chimique de certaines algues marines comme les polysaccharides sulfurique est semblable à celle de l'héparine qui est un anticoagulant . Tous les polysaccharides ont une activité contre la trombine.

On peut citer comme exemples:

- *Undaria Pinratifida* (algue rouge) possède un sucre "c" qui contient une grande quantité de galactose et / ou ester sulfurique. La demi vie d'action de ce sucre est la moitié de l'heparine chez les lapins invivo, et dans le plasma sanguin invitro.
- Les algues brunes possèdent le fucidon et le fucan qu'ils ont un effet contre le trombine (3) , (c).

#### 4-3 – La fibrinolyse:

La fibrinolyse est un phénomène de dégradation de la fibrine.

les algues marines possèdent des substances jouant le rôle d'un anticoagulant.

On peut citer comme exemples:

- *Corallina Rubens* qui contient une proteine ayant un rôle dans la lipolyse, la diminution du taux des sucres dans le sang et la lyse du fibrinogène.
- *Oxissillatoria Rosea* qui contient le (25) 1-3 palmi yayl -3-0-B-D- galacto pyranosyl glycerol , qui est considère comme un inhibiteur de l'assemblage des plaquettes sanguines(3), (c).

#### 4-4- L'effet immunologique :

La stimulation immunologique forme la relation entre la therapie chimique et traditionnelle et la prévention de la contagion, ayant un effet immunostimulant certain chez les immunodéprimés.

On peut citer comme exemples :

- *Eisenia Bicyclis* qui possède le fucidon qui améliore la défense du l'hôte contre la tumeur.
- *Fucus Visiculosus* contient des polysaccharides et de polyphenols ayant une activité contre le virus HIV.

#### 4-5-L'effet antimicrobien :

Il est déclaré qu'un nombre de constituants extraits à partir d'algues marines

possèdent une activité anti-microbienne.

On peut citer comme exemples :

- *Chlorella Pyrenoidosa* produit un antibiotique dénommé chlorellin
- *Dictyotales* qui ont une activité contre les champignons(3),(c).

#### 4-6- Autres activités:

Ils existent autres utilisations d'algues marines dans un bon nombre de maladies.

- Algues vertes qui contiennent l'Alspérine qui devient un antibiotique contre les microbes de l'intestin.
- Algues rouges (*Chondrus Crispus*) utilisées dans la thérapie des infections pulmonaires.
- L'extrait du hexuronique associé au B12 stimule la transformation du folate en acide folique remède de l'anémie par carence en acide folique.
- *Digenea simplex* (algue rouge) contient le kainate qui possède une activité anti-parasitaire sur les parasites intestinaux.
- *Laminaria*, *sargassum* et *macrocyctis* ayant un effet hypolipémiant et antihypertenseur artériel.
- Algues rouges contiennent de l'ara-agar et carrageenan utilisés dans la thérapie de quelques maladies digestives comme l'ulcère et les colopathies.
- Alginate qui est un élément essentiel de presque 300 constituants pharmaceutiques et chimiques qui délivre le corps du strontium radio-actif. Comme il y a beaucoup d'extraits d'algues marines qui sont efficaces sur plusieurs maladies :

- \* Carence en vitamines et oligo-éléments
- \* Rhumatisme.
- \* Différentes infections.
- \* rachitisme
- \* perturbation de la circulation sanguine et urinaire(3),(c).

#### 5- Utilisation des algues marines:

L'utilisation des algues marines est considérable depuis longtemps surtout dans l'alimentation et la médecine.

Aujourd'hui, la science nous a permis de fragmenter l'algue et de sélectionner parmi ses innombrables constituants. Ce qui présente un intérêt industriel, d'autres constituants font l'objet de recherche qui présentent déjà beaucoup d'intérêts (3).

Les différents domaines d'utilisation des algues marines sont :

##### 5-1- Domaine médical :

Les algues ont une importance dans l'alimentation puisqu'elles sont utilisées comme traitement préventif et curatif de maintes maladies. Elles sont regroupées sous l'appellation parfaitement justifiée de maladies de "civilisation" (comme les maladies cardio-cérébro-vasculaires, les troubles neuro-psychiques, les rhumatismes chroniques). Elles sont utilisées aussi comme des antibiotiques contre *Staphylococcus aureus*, elles ont un rôle antitumoral, antiviral, antimicrobien et antitoxines nerveuses (3),(2),(C).

##### 5-2-Domaine commercial :

Elles sont utilisées comme extraits ou comme algues dans différents produits industriels. Ce sont des produits importants de potas, sodium, iode. Elles ont un rôle dans l'industrie du papier, plastique, savon, matière de beauté, textiles, peinture et cuir, ...etc.

Comme il y a un intérêt dans la biotechnologie par exemple la manipulation des gènes des plastides des algues rouges dans la production de vingt (20) enzymes nécessaires dans les structures vitales. L'acide lactique, l'acide acétique, l'éthanol et l'agar qui intervient dans la préparation des milieux nutritifs qui sert au développement des bactéries, parasites et champignons (3),(2),(c).

#### **5-3-Domaine pharmaceutique:**

Dans la production de certains nombres de produits pharmaceutiques utilisés dans la chirurgie, ou comme détergents. De plus comme des substances anticoagulantes, sirop, soupes nutritifs...etc (3),(2),(c).

#### **5-4 – Domaine agronomique:**

Les algues marines ont une grande importance dans l'agronomie grâce à leurs richesses en sels minéraux et oligo-éléments. Elles sont utilisées comme fumier dans les engrais chimiques, ou dans la nutrition et dans la défense contre les parasites. Elles représentent aussi des sources d'hormones de croissance pour les végétaux (3),(2),(c).

#### **5-5-Domaine alimentaire:**

Les algues marines représentent une valeur alimentaire importante grâce à ses différents constituants nécessaires à la structure vitale (protéines, glucides, lipides, vitamines, sels minéraux, quelques enzymes).

L'homme utilise les algues marines comme aliment dans les produits de conserve, les salades...etc.

En parallèle, les algues marines constituent l'aliment maternel pour certains petits poissons(3),(2),(c).

L'extraction des substances bioactives à partir d'algues marines est faite au niveau du laboratoire de l'institut des sciences de la nature, centre universitaire de Jijel.

**Chapitre -II-**

**Matériel et méthodes**

## **II- Matériel et méthode :**

### **1- Matériels utilisés :**

- Echantillon : deux types d'algues brune et verte.
- L'eau distille (lavage des échantillons et matériels).
- L'eau de robinet (lavage des échantillons et matériels).
- L'eau de javel pour déterger la paillasse et les matériels).
- La balance pour peser le poids sec des échantillons.
- Mortier pour broyer.
- Spatule.
- Etuve a 55 ° (stérilise les flacons, les tubes, l'évaporation du solvant).
- Etuve à 37 ° c (pour l'antibiogramme).
- Ethanol (solvant).
- Les boites pétries pour l'ensemencement des bactéries et l'antibiogramme
- Les flacons pour mélanger le solvant avec l'extrait sec.
- Papier filtre pour filtrer l'extrait.
- Tubes stériles (17 tubes).
- Gélose nutritive (5 boites).
- Souches bactériennes (17 souches).
- Disque d'antibiotiques (Imipenem, cefoxitine, cefalotine ) comme référence.
- Papier wattman pour faire les disques d'antibiotiques pour les deux extraits.
- Bec benzène pour travailler dans une zone stérile.
- Anse de platine pour enlever les colonies des souches.



- Pince pour déposer les disques imprègnes et antibiotiques.
- Réfrigérateur pour garder les boites pétries à gélose nutritive.
- Règle pour mesurer le diamètre d'antibiotiques.
- Papier aluminium pour garder les boites pétries dans l'étuve.

## **2- L'extraction :**

Elle consiste à extraire en une seule opération le maximum de soluté en solution dans un solvant choisi son grand pouvoir dissolvant.

Le but à atteindre est d'extraire la plus grande quantité possible d'une substance aussi pure que possible (11).

### **Les étapes d'extraction :**

#### **A – collection des échantillons :**

La prise des échantillons a été faite au niveau de la plage de Jijel

Dans notre travail, nous avons utilisés deux types d'algues :

- Algue verte qui est un *Ulva rigida* (laitue de mer) (9), (c).
- Algues brune qui est un *Gelidium sesquipedales* (9).

Après la collection, le triage et l'élimination des parties inutiles des échantillons est faite. Le lavage avec l'eau de robinet puis avec l'eau distillée.

#### **B – Dessiccation :**

Pour l'extraction d'une substance active, la dessiccation est une étape pratiquement toujours indispensable.

La dessiccation ou séchage a pour but d'enlever totalement ou partiellement l'eau contenu dans un produit.

Plus généralement, cette opération permet d'éliminer toute substance volatile (5).

La dessiccation de notre échantillon a été faite de la manière suivante : séchage à l'air libre sur la pailasse puis dans l'étuve à 55 °C durant 24h.

#### **C – Pulvérisation :**

Après la dessiccation, la pulvérisation est une étape pratiquement obligatoire pour utiliser un principe actif qu'il soit d'origine végétale ou qu'il provient de substances chimiques naturelles.

Le broyage ou pulvérisation a pour but de diviser ou de fractionner des substances en particules de taille réduite (5).

Le broyage des deux types d'algues verte et brune est réalisé dans le mortier jusqu'à l'obtention d'un extrait sec en particules presque homogène. L'extrait obtenu est pesé, on obtient 13,8g d'extrait brun et 8,4g d'extrait vert.

#### **D – Dissolution :**

La dissolution est une opération qui consiste à diviser une substance à l'état moléculaire au sein d'un liquide, elle conduit à une préparation homogène appelée : solution .

Cette dissolution est plus au moins longue selon les substances à dissoudre et les solvants utilisés (5).

Nous avons utilisé l'éthanol puisqu'il est considéré comme un bon solvant qui répond à deux critères principaux :

- il doit avoir un grand pouvoir dissolvant afin non seulement d'extraire quasi totalement la substance mais encore à opérer ce transfert dans un volume réduit afin de réaliser une concentration.

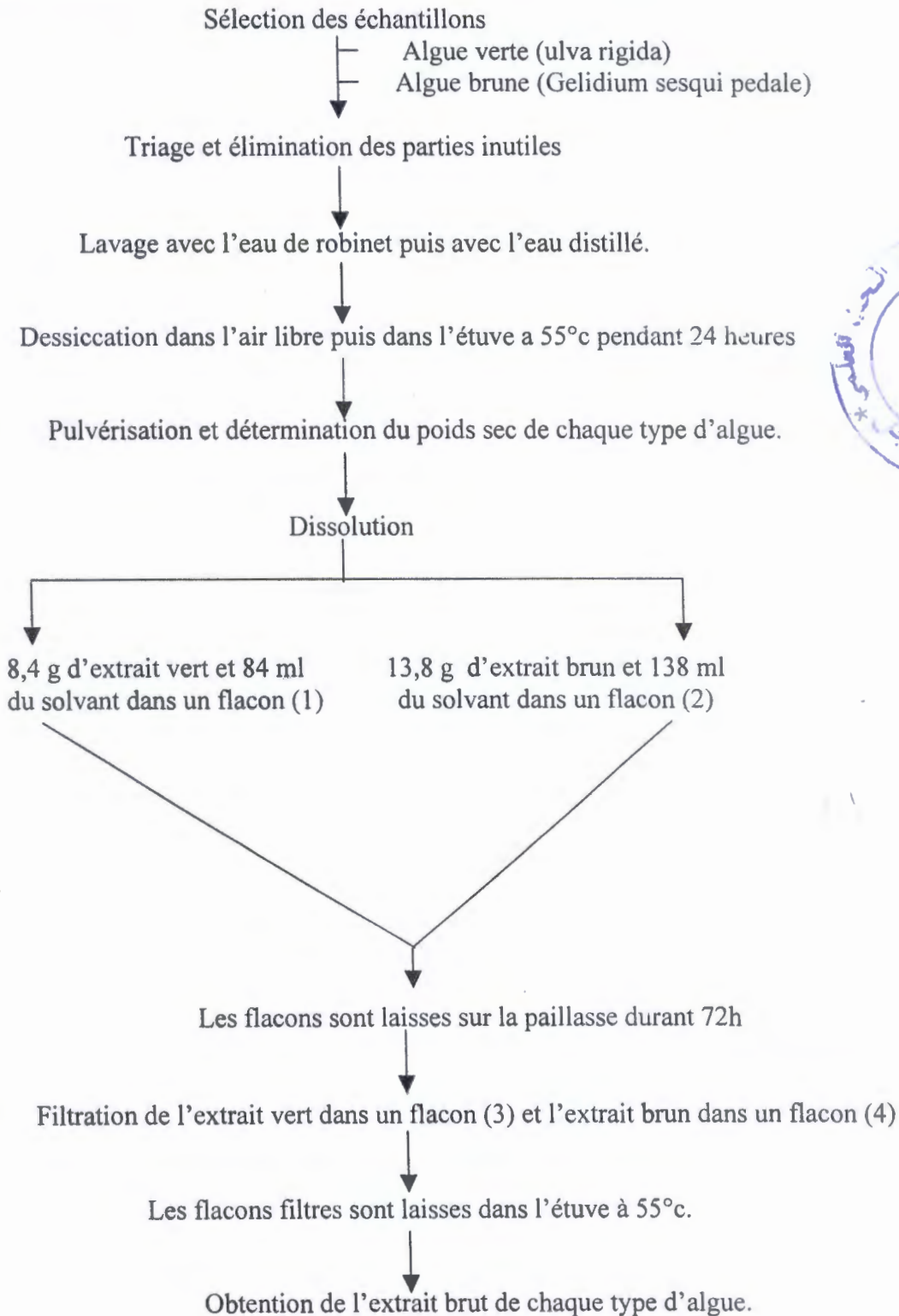
- la seconde qualité fréquemment souhaitable est la volatilité du solvant extractif(11), (8).

La dissolution se fait dans des flacons stériles. On ajoute le solvant au poids sec de chaque extrait d'algue a la base de la formule suivant : 1g d'extrait sous forme dissoudre dans 10 ml de solvant.

On les laisse 48 h sur la paillasse puis on les met dans l'étuve a 55° c jusqu'au séchage.

En fin, on obtient un extrait brut pour chaque types d'algues marines.

## Protocole de l'extraction des substances bioactives à partir d'algues marines :



## **Chapitre -III-**

# **Résultats et discussions**

### **III- Résultats et discussions :**

#### **1-Résultats de l'extraction :**

Après l'incubation dans l'étuve on obtient a la fin un extrait brut pour chaque type d'algue étudié contenant les substances bio actives.

Est ce que on a réussi a extraire les substances bio actives a partir des deux types d'algues marines verte et brune ?

C'est pour cela, qu'on propose d'évaluer l'activité de ces substances contenues dans les deux extraits bruts des algues marines, sur différentes souches bactériennes par le simple test de l'antibiogramme.

## **2- Activité de l'extrait brut des algues marines sur différentes souches bactériennes :**

Les souches testées sont récoltées à partir du laboratoire d'hygiène de différents produits pathologiques.

Le nombre total est de dix sept(17) souches regroupées dans les espèces suivantes :

- *Echerichia coli* : cinq (5) souches.
- *Staphylocoque* : quatre (4) souches.
- *Pseudomonas* : cinq (5) souches .
- *Enterobacter* : une (1) souches.
- *Proteus* : une (1) souches .
- *Klebsiella* : une (1) souches.

### **2-1- Méthode d'expérimentation :**

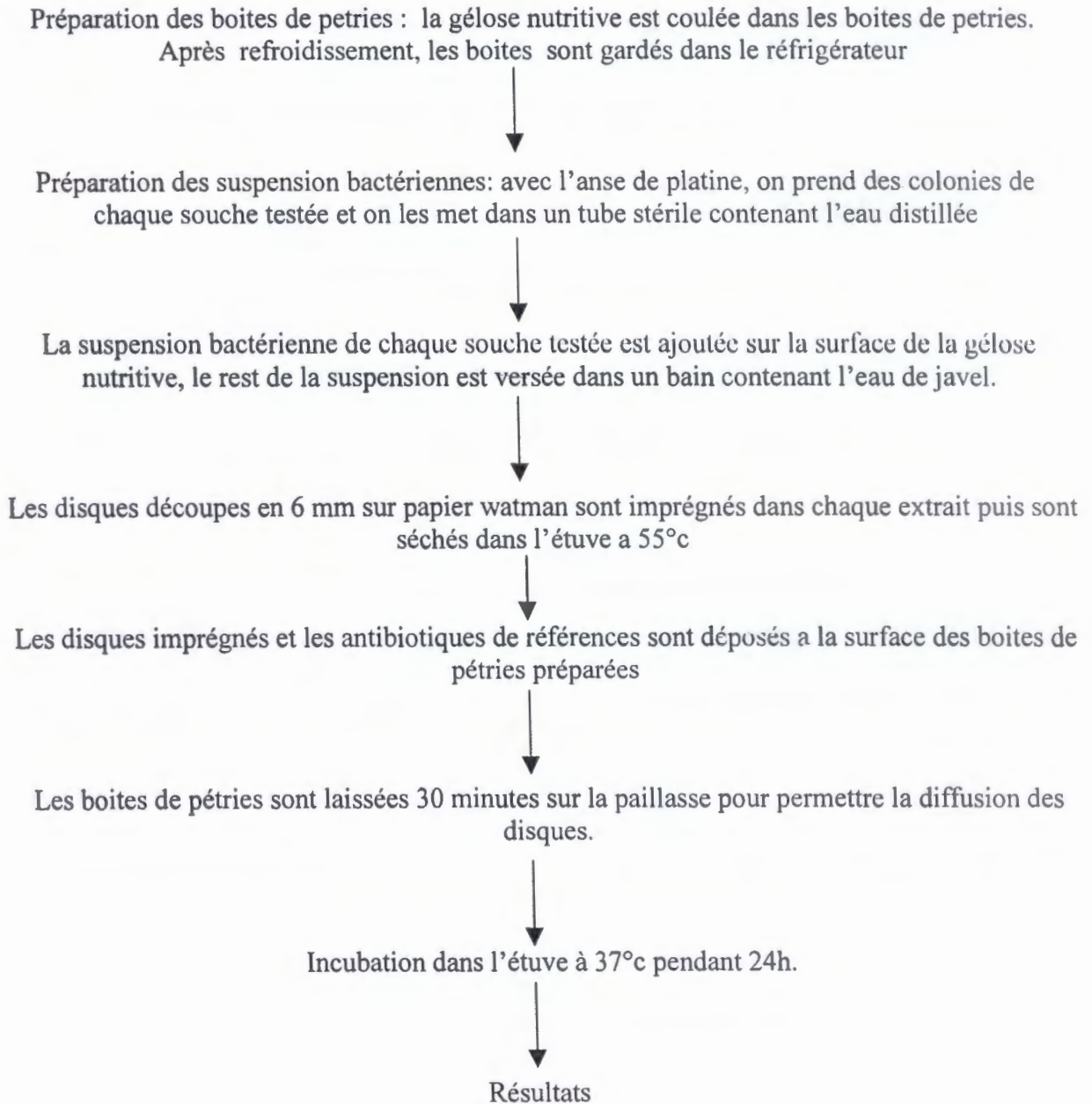
#### **A- préparation des disques d'antibiotiques :**

- Les disques sont découpés en 6 mm de diamètre sur papier watman.
- Les disques après stérilisation sont imbreignes chacun par l'extrait des deux types d'algues (14).

#### **B – technique de l'antibiogramme :**

- La gélose nutritive est mise dans les boites de pétries .
- Après refroidissement, les boites sontensemencées par inondation avec les suspensions bactériennes des souches à testées.
- Les disques préparés au parant sont déposés avec les trois types d'antibiotiques comme référence : Imipenem, Cefoxitine et Cefalotine sur la surface de la géloseensemencée .
- Les boites sont laissées 30 minutes sur la pailleasse pour permettre la diffusion de l'extrait et de l'antibiotique.
- L'incubation est faite dans l'étuve a37°c pendant 24 heures

## Protocole de l'évaluation de l'activité des extraits d'algues marines sur différentes souches bactériennes :





# Résultats et discussions

## 2-2-Résultats de l'expérience:

Après 24 heures d'incubation, les résultats de notre expérience sont résumés dans les tableaux IV, V, VI et VII

**A- Tableau IV: Action des extraits sur les souches d'Echerichia coli**

Antibiotiques Souches	Cefalotine	Cefoxitine	Imipenem	Extrait brun	Extrait vert
<i>E.coli (S1)</i>	---	---	30 mm	---	---
<i>E.coli (S2)</i>	---	---	27 mm	---	---
<i>E.coli (S3)</i>	---	---	17 mm	---	---
<i>E.coli (S4)</i>	---	---	28 mm	30mm	15 mm
<i>E.coli (S5)</i>	---	---	25 mm	28mm	15 mm

S: souche

Les cinq souches présentent une sensibilité pour l'antibiotique Imipenem avec des diamètres de 30 mm, 27 mm, 17 mm, 28 mm, 25 mm et une résistance pour Cefalotine et Cefoxitine.

On note aussi qu'il existe une sensibilité de la quatrième et la cinquième souche vis-à-vis les deux extraits d'algues marines vert et brun.

Les souches (1)(2) et (3) présentent une résistance aux deux extraits.

**A- Tableau V: Action des extraits sur les souches de Pseudomonas:**

Antibiotiques Souches	Cefalotine	Cefoxitine	Imipenem	Extrait brun	Extrait vert
<i>Pseudomonas (S1)</i>	---	---	22 mm	---	---
<i>Pseudomonas (S2)</i>	---	---	26 mm	---	---
<i>Pseudomonas (S3)</i>	---	---	23 mm	---	---
<i>Pseudomonas (S4)</i>	---	---	15 mm	---	---
<i>Pseudomonas (S5)</i>	---	---	29 mm	---	---

Les antibiotiques de références ne présentent aucune action sur les souches de *Pseudomonas* sauf l'antibiotique Imipenem qui présente une action notable sur les cinq souches de *Pseudomonas* avec des diamètres 22 mm, 26 mm, 23 mm, 15 mm, 29 mm.

Le tableau montre clairement que l'extrait vert et l'extrait brun ne possèdent aucun effet sur les cinq souches de *Pseudomonas*.

**B- Tableau VI: Action des extrait sur les souches des Staphylocoques:**

Antibiotiques Souches	Cefalotine	Cefoxitine	Imipenem	Extrait brun	Extrait vert
<i>Staphylocoques (S1)</i>	---	---	44 mm	8 mm	10 mm
<i>Staphylocoques (S2)</i>	---	---	32 mm	15 mm	25 mm
<i>Staphylocoques (S3)</i>	---	---	28 mm	19 mm	17 mm
<i>Staphylocoques (S4)</i>	---	---	40 mm	15 mm	19 mm

Les quatre souches de Staphylocoques présentent une sensibilité importante pour l'antibiotique Imipenem avec des diamètres 44 mm, 32 mm, 28 mm, 40 mm et une résistance aux Cefalotine et Cefoxitine.

Les deux extraits brun et vert possèdent une action sur les quatre souches de Staphylocoques allant de 8 mm jusqu'à 25 mm.

**D-Tableau VII :action des extraits sur les autre germes :**

Antibiotiques / Souches	Cefalotine	Cefoxitine	imipenem	Extrait Brun	Extrait vert
- <i>klebsiella</i>	---	---	21mm	---	---
- <i>Pneumoniae</i>	---	---	—	---	---
- <i>Proteus</i>	---	---	21mm	---	---
- <i>Enterobacter</i>	---	---	—	---	---

On remarque que nos extraits n'exercent aucune activité sur ces différents germes. .

Les souches de *klebsiella* et *proteus* présentent une sensibilité à l'antibiotique Imipenem avec un diamètre de 21 mm par contre les souches de *Pneumoniae* et *Enterobacter* sont résistantes.

Les deux antibiotiques de références Cefalotine et Cefoxitine ne possèdent aucune action sur les souches de *klebsiella*, *Proteus*, *Pneumoniae* et *Enterobacter*.

## - Discussion :

Les résultats que nous avons obtenus parmi notre expérience montrent non seulement l'existence des substances bioactives dans nos deux extraits d'algues marines vert et brun, mais aussi l'effet de ces substances sur certaines souches bactériennes testées.

L'activité des deux extraits d'algues marines vis-à-vis d'*E.coli* est estimée à 40% dans l'extrait brun, 60% des souches se sont révélées résistantes dans les deux extraits et 40% des souches sont intermédiaires dans l'extrait vert

Les résultats sont schématisés dans les figures (1) et (2).

Activité  
d'extrait( %)

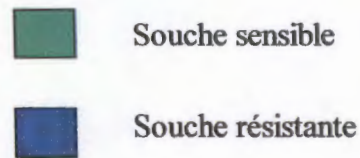
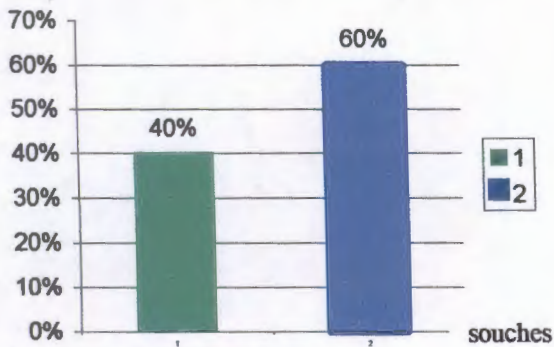


Fig1 : l'activité de l'extrait brun sur *E.coli*

Activité  
d'extrait( %)

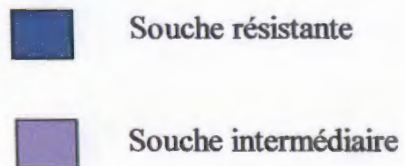
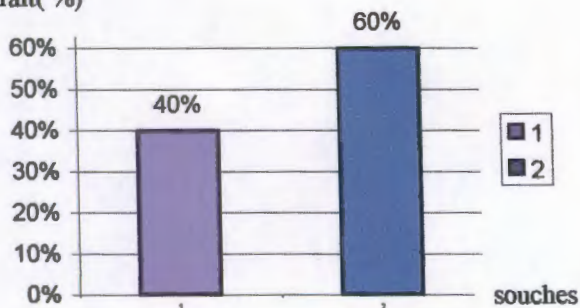


Fig2 : l'activité de l'extrait vert sur *E.coli*.

Cependant l'activité des deux extraits sur les souches de *Staphylocoques* est considérable. Elles est de 100% dans l'extrait brun. On note 50% des souches sont révéles intermédiaire, 25% des souches sont résistantes et 25% des souches sont sensibles.

Pour l'extrait vert, 75% des souches sont révéles sensibles, et 25% des souches sont résistantes.

Les résultats sont schématisés dans les figures (3) et(4) :

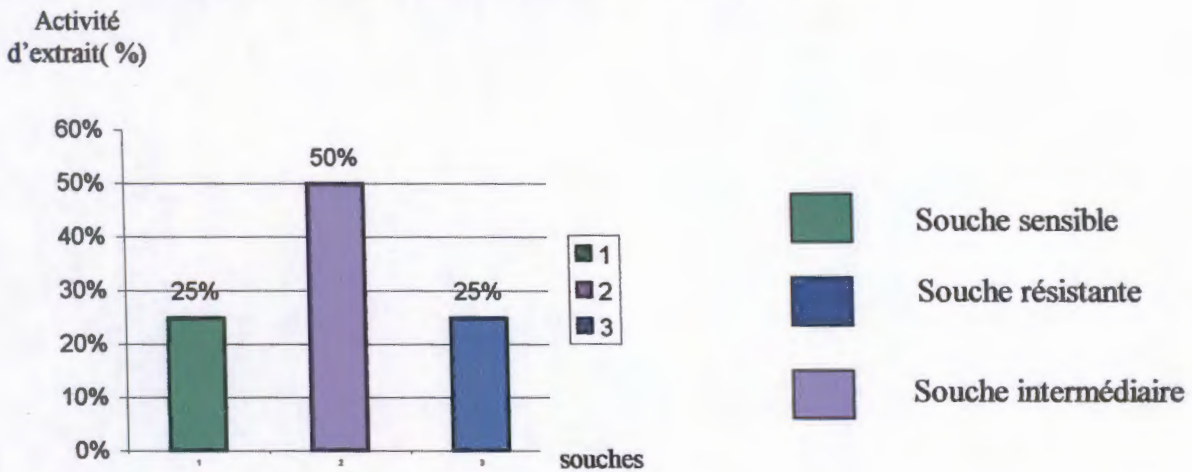


Fig3 : l'activité de l'extrait brun sur *Staphylocoques*

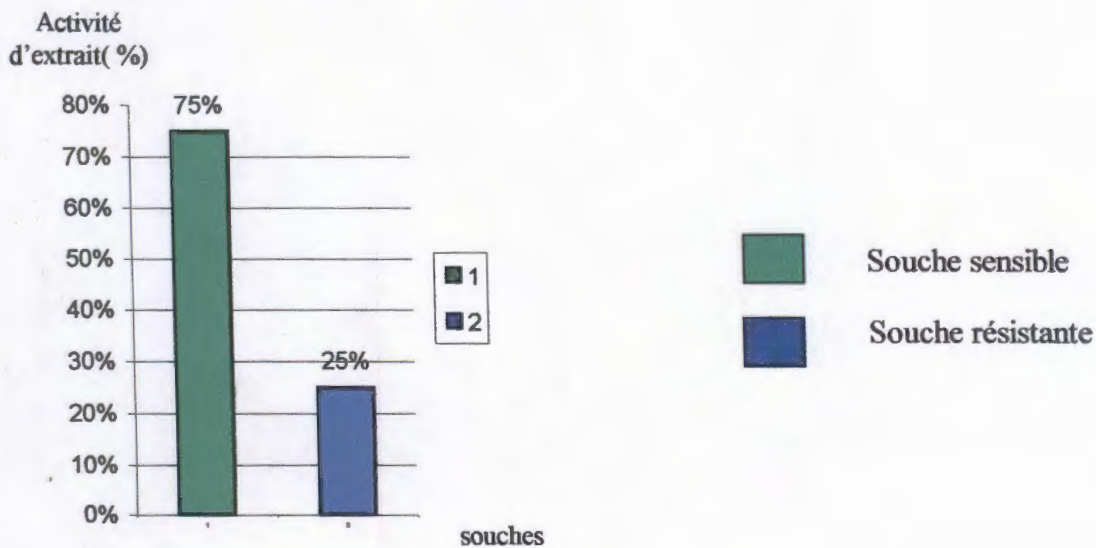


Fig4 : l'activité de l'extrait vert sur *Staphylocoques*

Concernant les souches de *Pseudomans*, *klebsiella*, *Proteus*, *Pneumoniae* et *Enterobacter*, les deux extraits vert et brun ne possèdent aucun effet sur ces germes .

Notre travail nous a permis d'extraire des substances bio-actives à partir d'algues marines (verte et brune). Ces mêmes substances ont fait l'objet de test micro-biologique pour évaluer leurs activités vis à vis de différentes souches bactériennes par le test de l'antibiogramme .

D'après notre expérience, on peut estimer que les extraits d'algues marines possèdent une activité sur certaines souches bactériennes. Cette activité a été montrée au paravent par plusieurs chercheurs en microbiologie (2).

Les résultats que nous avons obtenus montrent clairement que les extraits d'algues marines renferment des substances bio-actives qui sont douées d'activité anti- microbienne et qui a été démontré dans notre travail surtout concernant les souches de staphylocoques et E.coli.



# Conclusion

## Conclusion :

La recherche d'une nouvelle substance s'intéresse dans un premier temps à l'extraction du principe actif.

Les découvertes montrent l'intérêt de l'extraction des substances bio-actives à partir d'algues marines.

Les extraits d'algues marines utilisés dans différents domaines car les substances bio-actives contenus dans ces extraits sont douées d'activités variables. Comme s'est démontré dans notre travail l'activité anti-bactérienne la plus notable est remarqué pour les souches de *staphylocoques* et *E.coli.*

Les résultats que nous avons obtenus sont primitifs et on laisse la porte ouverte au microbiologiste pour mieux approfondir ce modeste travail.

## Références :

- 1- بوالجدري محمد : دروس السنة الثانية مدى طويل، مقياس بيولوجيا النبات، السنة الدراسية 1999-2000. المركز الجامعي بجيجل.
- 2- محمد صيفور، عبد السلام شقروس : دراسة بيوكيميائية لنوعين من النباتات البحرية بالشرق الجزائري. مذكرة تخرج ديبلوم دراسات عليا، دفعة 1997، جامعة قسنطينة.
- 3- راجحي حدة، لوط نظيرة، بوالشوف راضية : مسح تحليلي لبعض المركبات البيوكيميائية لنوعين من النباتات البحرية. مذكرة تخرج ديبلوم دراسات عليا دفعة 1998، جامعة قسنطينة.
- 4- فؤاد قاسم السحار : مقدمة في علم تقسيم النبات، الطبعة الثانية، الدار العربية للنشر والتوزيع.
- 5- Aiache M.I, et Renoux .R : Initiation. à la connaissance. Maison : parm Milan Barcelon 1955, Page : 82-114.
- 6- Andromeda Oxford L.T.D, 9-15 : Evolution de la vie, the uneyard abung don oxford shine 0x14 3 px maxi livre proférance pour la présente édition 1996.
- 7- Bruneto- J : phermacognosie, phytochimie, plantes médicinales 2ème édition entièrement refondue et augmentés préface de professeur A.CAVE , Université de Paris- Sud, Centre de Chatenay, Malapry, Janvier 1997.
- 8- Fleuv- M.B : Cours de chimie analytique, équilibre en solution.
- 9- GAY RAL - P : les algues morphologie, cytologie, reproduction écologie.
- 10- Baha Aïmed, Akkal Razik : Etude biochimique de deux espèces d'algue marines de l'Est algérien, Diplôme D.E.S, promotion 1999, Université de Constantine.
- 11- Mhuzier- G : et autres : Chimie analytique TOME II : méthode de séparation 3ème édition.
- 12- Moreau Jean- Luis et autres : La Rousse, Imprimerie herger Levrault-Nancy, Juin 1977 N° de série éditeur 13007, imprimé en France 320-118-F- septembre .1985.
- 13- Nicklin -.Kgraene, Cook- I paget of R.Killington : Micro-biologie page 236-257.
- 14- Abibes Nadia et Autre : Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait de l'écorce du chaîne de liège, diplôme D.E.S, option micro-biologie, promotion 2001, centre universitaire de Jijel.

## Sites Internet :

- a- File : //A/ Guide de % plantes % 20 aquatiques h.t.m.
- b- w.w.w Ektas. Fr. com.
- c- w.w.w. Naturosanté.com .

**Présenté par :**

KEHAL Nadira.  
AGUIS Saoussen  
AISSANI Fouzia

**Date de Soutenance :**

2002

**TITRE :** Extraction des Substances Bioactives à partir d'Algues Marines et Essai de l'Evaluation de leurs Activités sur Différentes Souches Bactériennes

### المخلص :

تشكل الطحالب البحرية أهمية بالغة من خلال موادها الحيوية التي تستغل في مجالات مختلفة. الحصول على المواد الحيوية يتم بالإستخلاص كأول مرحلة من عملنا. استخلاص المواد الحيوية تم نوعين من الطحالب البحرية خضراء وبنية، تقدير نشاط هذه المواد تم على أنواع بكتيرية متعددة عزلت من مختلف النواتج المرضية. الإختبار المستعمل هو الأنتيبيوغرام. فعالية هذه المواد تبنت بالتأثير الملاحظ على بعض الأنواع البكتيرية لا سيما أشيريشياكولي و ستافيلوكوك.

**كلمات المفتاح :** الطحالب البحرية- الإستخلاص- المواد الحيوية- نشاط ضد البكتيرية.

### Résumé :

Les algues marines constituent une grande importance pour leurs substances bioactives qui sont exploitées dans différents domaines. L'obtention des substances bioactives est effectuée par l'extraction comme première étape de notre travail. L'extraction des substances bioactives est faite à partir de deux types d'algues marines verte et brune. L'évaluation de l'activité de ces substances est faite sur plusieurs souches bactériennes, isolées de différents produits pathologiques. Le teste utilisé est l'antibiogramme. L'efficacité de ces substances est montrée par l'effet remarquable sur certaines espèces bactériennes notamment E-coli et staphylocoque.

**Mots clés :** Algues marines – Extraction- Substances bioactives -Activité Antibactérienne.

### Summary:

The sea algae constitute a great importance for their bioactive substances which are used in different fields. The obtention of bioactive substances is effectuated by the extraction as a first stage of our work. The extraction of bioactive substance is done from two kinds of sea algae : green and brown. The evaluation of the activity of these substances is done on many various bacterial species isolated from different pathological products. The test used is the antibiogram. The efficiency of these substances is showed by the remarkable effect on certain bacterial species especially E.coli and staphylocoque.

**Key words:** Sea algae- Extraction- Bioactive substances- Anti bacterial activity.

**Résponsable de recherche :** Mme / ROULA SAGIA.