

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES
FACULTE DE TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES



DOMAINE : SCIENCES ET TECHNOLOGIE
FILIERE : GENIE DES PROCEDES
SPECIALITE : GENIE CHIMIQUE

MEMOIRE DE MASTER

THEME

*Caractérisation physicochimique et étude biologique
des alginates extraits des algues locales*

Présenté par :

ARAB Ikram

MAOUCHE Maissa

Soutenu publiquement le 19/06/2022 devant le Jury composé de :

LARID	Roza	MAA	UMBB	Président
TOUZOUIRT	Saida	MCA	UMBB	Encadreur
KORD	Afaf	MRB	CNRDPA	Examineur

2021/2022

Remerciements

Nous remercions d'abord, Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, et la volonté pour mener à terme ce travail.

La première personne à qui nous souhaitons et adressons nos chaleureux remerciements est Mme Touzouirt enseignante à la Faculté de technologie d'avoir acceptée de diriger ce travail. C'est grâce à ses suggestions, remarques et critiques que ce travail a pu être effectué et sans elle ce travail ne pourrait avoir lieu. Merci de nous avoir accordé votre confiance

Nous remercions les membres de jury, d'avoir pris le temps de lire ce manuscrit, de juger le travail et en acceptant de faire partie du jury.

Nous tenons à adresser nos remerciements à :

Tous les membres de centre de recherche et développement du groupe SAIDAL, ainsi, le chef de laboratoire madame Azine Kenza ,le chef de laboratoire de la faculté de technologie monsieur Bournissa pour sa gentillesse, patience et son aide.

Un grand merci à madame Kord, maitre de recherche au centre nationale de recherche et de développement de pêche et d'aquaculture (CNRDPA) pour l'aide et surtout pour les échantillons d'alginates qu'elle nous fourni

Tous les enseignants qui nous ont enseigné au long de toutes années d'étude.

En fin, nous remercions tous ceux et celles qui ont étaient à nous côté le temps de réalisation de notre projet.

Trouve ici l'expression de notre reconnaissance et gratitude.

Merci

Dédicace

Grace à dieu tout puissant qui m'a donnée le courage, la volante la force pour réaliser ce travail que je le dédie avec joie, fierté et respect,

A mon très cher père «Que dieu ait son âme»

Et particulièrement à ma très chère maman qui m'a encouragé durant toutes mes études. Pour ton sacrifice ton amour, Sans toi, je ne pourrai être ce que je suis et je ne saurais pu progresser et achever ce travail.

Puisse Dieux, le tout puissant te préserve et t'accorde une longue et heureuse vie

A ma très chère sœur IMANE et son mari et ma nièce ASSIL et mon neveu YUCEF

A mes chers frères MAHDI et HOUSSEM, et surtout ma petit sœur IKHLAS qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles. Merci pour votre amour sans limite.

A ma famille tantes, oncles, cousins et cousines

A ma très chère amie et mon binôme MAISSA pour son soutien moral, patience et sa compréhension tout long de ce projet et sa famille.

A ma très chère amie Ghada

IKRAM

Dédicace

Au nom de l'amour, de l'obéissance et du respect, je dédie ce modeste travail :

A ceux qui ont éclairés le chemin de ma vie, mes très chers parents source de tendresse, d'amour et de bonheur et à qui j'exprime ma gratitude pour leur soutien, leurs sacrifices, conseils et prières qui m'ont permis de réaliser ce travail « Que Dieu vous garde».

Mes chers frères Oussama et Walid : qu'ils trouvent ici toute ma Gratitude pour leur Soutien tout au long de mes études.

Une spéciale dédicace pour les familles Maouche et Djenadi pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire. Spécialement, mes meilleures cousines Khaoula et Houda

Une spéciale dédicace à la personne qui compte énormément pour moi et qui m'a soutenu tout au long de ce chemin. Qui a toujours été présente dans les pires et les meilleurs moments ; à toi Ikram merci pour tout ce que tu fais pour moi

A tous mes amis Rokaia, Manel, Anfel, Nihel et Nesrine qui m'ont toujours encouragé, et pour toute ma promotion de génie chimique à qui je souhaite plus de succès et de réussites.

Maissa

Résumé

L'objectif de ce travail porte sur l'étude physicochimique, pharmaco-toxicologique et microbiologique des alginates de sodium extrait d'algue brune de type « *Sargassum Vulgar* » récolte à « Sghiret » Wilaya de « Boumerdes ».

La caractérisation physicochimique montre une similarité entre l'alginate extrait et commerciale à l'exception des caractéristiques organoleptiques qui révèlent une différence claire dans la couleur et l'odeur. La teneur en humidité est plus élevée pour l'alginate extrait. Les résultats confirment la qualité des deux échantillons pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne.

L'étude rhéologique montre que la solution l'alginate est un liquide viscoélastique, de comportement rhéofluidifiant.

L'étude d'activité microbiologique par la méthode de l'aromatogramme (méthode de diffusion sur milieu nutritif) a montré une activité bactériostatique sur *Staphylococcus aureus* et fongistatique *Candida albicans* sur l'alginate extrait. L'étude de la toxicité aiguë nous a permis de conclure que la dose de 2000mg/kg est non létale pour usage pharmaceutique.

Mots clés : algue, alginate, Bactériostatique, fongistatique, Toxicité aiguë,

Abstract

The objective of this work relates to the study of physicochemical, pharmaco-toxicological and microbiological characterization of sodium alginates extracted from brown seaweed of the type "*Sargassum Vulgar*" harvested in "Sghiret" Wilaya of "Boumerdes".

The physicochemical characterization shows a similarity between the extracted and commercial alginate except for the organoleptic characteristics which reveal a clear difference in color and smell. The moisture content is higher for the extracted alginate. The results confirm the quality of the two samples for pharmaceutical use according to the European Pharmacopoeia.

The rheological study shows that the alginate solution is a viscoelastic liquid, with shear-thinning behavior.

The microbiological activity study by the aromatogram method (diffusion method on nutrient medium) showed a slight fungistatic activity on *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* with the extracted alginate. The study of acute toxicity allowed us to conclude that the dose of 2000mg/kg is non-lethal

Keywords: algae, alginate, bacteriostatic, fungistatic, acute toxicity,

ملخص

الهدف من هذا العمل يتعلق بدراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والسمية الدوائية والميكروبيولوجية للألجينات الصوديوم المستخرجة من الأعشاب البحرية البنية من نوع "*Sargassum Vulgar*" المحصودة بمنطقة "الصغيرات" بولاية "بومرداس".

يظهر التوصيف الفيزيائي الكيميائي تشابهاً بين الجينات المستخلصة والتجارية باستثناء الخصائص الحسية التي تكشف عن اختلاف واضح في اللون والرائحة. محتوى الرطوبة أعلى بالنسبة للألجينات المستخرجة. تؤكد النتائج جودة العينتين للاستخدام الصيدلاني وفقاً لدستور الأدوية الأوروبي.

أظهرت الدراسة الريولوجية أن محلول الألجينات هو سائل لزج مطاطي، مع سلوك ترقق القص.

أظهرت دراسة النشاط الميكروبيولوجي بطريقة التصوير العطري (طريقة الانتشار على وسط المغذيات) وجود نشاط مع الألجينات المستخلصة. سمحت لنا *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* فطري طفيف على

دراسة السمية الحادة باستنتاج أن جرعة 2000 مجم / كجم غير مميتة

الكلمات المفتاحية: الطحالب، الجينات، الجراثيم، الفطريات، السمية الحادة،

TABLE DES MATIÈRES

Organisme d'accueil	
1. Présentation du groupe SAIDAL.....	
2. Historique	
3. Les laboratoires de CRD.....	
3.1. Laboratoire de pharmacie galénique	
3.2. Laboratoire de la chimie analytique.....	
3.3. Laboratoire de pharmacotoxicologie	
3.4. Laboratoire de microbiologie.....	
4. Service de CRD	
4.1. Service de documentation et d'information technique et scientifique.....	
4.2. Service assurance qualité	
4.3. Service des affaires réglementaires.....	
Introduction générale.....	1
Chapitre I.....	1
Synthèse bibliographique	1
1. Les algues	2
1.1. Définition	2
1.2. Les algues en Algérie.....	3
1.3. Algue Sargassum Vulgar	3
2. Généralité sur les alginates	4
2.1. Définition d'alginate	5
2.2. Localisation d'alginate.....	5
2.3. Classification.....	6
2.4. Structure chimique	6
2.5. Propriétés physique-chimiques	7
2.5.1. Solubilité et viscosité	8
2.5.2. Stabilité :	8
2.5.3. Rapport M/G :	9
2.6. Caractérisation rhéologique des alginates.....	9
2.6.1. Principe La rhéologie	9
2.6.2. Caractérisation rhéologique des alginates.....	11
2.7. Notion sur la toxicologie.....	11
2.7.1. Définition d'une toxine.....	11
2.7.2. Toxicité aigue.....	11

2.8.	Notion sur l'activité anti inflammatoire.....	12
2.8.1.	Définition L'inflammation	12
2.8.2.	Action anti-inflammatoire.....	12
2.9.	Activités antimicrobienne	13
2.9.1.	Etude de l'activité antimicrobienne	13
2.9.2.	Etude de l'activité antifongique	13
3.	Principales applications des alginates	14
3.1.	Application industrielles des alginates.....	14
Chapitre II : Etude expérimentale.....		2
1.	Matériel.....	16
1.1.	Matériel végétal	16
1.2.	Matériel animale	17
1.3.	Réactifs et matériel de laboratoire :	17
2.	Méthodes	17
2.1.	Caractérisation physico-chimique des alginates de sodium étudié.....	17
2.1.1.	Caractérisation organoleptique	18
2.1.2.	Identification.....	18
2.1.3.	Détermination de la teneur en humidité d'alginate.....	18
2.1.4.	Détermination la teneures en cendre	18
2.1.5.	Détermination des teneurs en minéraux.....	19
2.2.	Caractérisation par spectroscopie Infra Rouge	19
2.3.	Etude du comportement rhéologique	20
2.4.	Étude biologique	21
2.4.1.	Etude microbiologique.....	21
2.4.2.	Etude de la toxicité aigüe	23
2.4.3.	Activité anti-inflammatoire (In Vivo).....	24
Chapitre III : Résultats et discussion		27
1.	Caractéristiques physico-chimiques des alginates de sodium	28
1.1.	Identification :.....	28
1.2.	Caractéristiques organoleptiques	28
1.3.	Caractéristique physique d'alginate de sodium	29
1.3.1.	La teneur en humidité	29
1.3.2.	Détermination de la teneur en cendres :.....	29
1.4.	Caractéristique chimique	30
1.4.1.	Détermination de la teneur en minéraux.....	30

1.4.2.	Résultat de la caractérisation spectroscopique infra rouge	32
1.4.3.	Résultats de l'étude rhéologique	33
2.	L'analyse pharmaco-toxicologique	35
2.1.	Activité microbiologique	35
2.2.	Evaluation de l'activité de toxicité aigue.....	36
2.3.	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire	37
	Conclusion générale	40

TABLE DES FIGURES

Figure 1: différents types des algues	2
Figure 2: chimiste anglais E. C. Stanford.....	5
Figure 3: Modèle proposé pour l'organisation de la paroi chez les algues brunes.	6
Figure 4: structure chimique d'alginate.....	7
Figure 5: structure de l'acide mannuronique et guluronique.....	9
Figure 6: Rhéogramme d'un fluide newtonien	10
Figure 7: Rhéogramme d'un fluide rhéofluidifiant.	10
Figure 8: rheograme d'un fluide rheoépaississant.....	11
Figure 9: Pourcentage de la production de l'alginate	14
Figure 10: Espèce d'algue <i>Sargassum vulgare</i>	16
Figure 11: photomètre à flamme	19
Figure 12: Rhéomètre utilisé	20
Figure 13: administration de l'alginate de sodium extrait.....	24
Figure 14: Administration d'alginate de sodium	25
Figure 15: administration de la carragénine dans la patte arrière gauche.....	26
Figure 16: (a) Sacrifice des animaux par rupture de la nuque, (b) Coupe les pattes.....	26
Figure 17: la peser des pates sur une balance analytique	26
Figure 18: différents types d'alginate : (a) extraits, (b) commerciales	29
Figure 19: teneur en humidité des alginates par rapport à la norme.....	29
Figure 20 : teneur en cendre des deux alginates.....	30
Figure 21: courbe d'étalonnage de Kcl.....	31
Figure 22: courbe d'étalonnage de Nacl.....	31
Figure 23: teneur en minéraux des alginates	32
Figure 24: spectre IR d'alginate extrait et commerciale.....	33
Figure 25: Courbe d'écoulement de l'alginate commerciale à différentes concentrations .	33
Figure 26: Courbe d'écoulement de l'alginate extraite à différentes concentrations	34
Figure 27: Courbe d'écoulement des alginates commerciale et extraite à 0.08mg/ml	35
Figure 28: Zone d'inhibition de : (a) <i>Staphylococcus aureus</i> , (b) <i>Escherichia coli</i> , (c) <i>Candida albicans</i> , (d) <i>Saccharomyces</i>	36
Figure 29: pourcentage de réduction d'œdème.	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: échelle de la classification des substances toxique chez les rongeurs selon hodge et sterner.....	12
Tableau 2:Quelques utilisations des alginates	15
Tableau 3: matériel et produits utilisées	17
Tableau 4: souches bactériennes utilisées dans l'analyse microbiologie	21
Tableau 5: Zones d'inhibitions et leurs sensibilités.....	23
Tableau 6 : caractéristiques organoleptiques d'alginate de sodium	28
Tableau 7: résultats de l'étude microbiologique des alginates.	35
Tableau 8: résultats de test de toxicité aigüe.	36
Tableau 9:l'épaisseur des pattes traitees (gauche) et non traitées (droites) des souris	37
Tableau 10:pourcentage d'œdème et de réduction	38

ABRÉVIATION

CRD : centre de recherche et développement SAIDAL

INAPI : 'Institut National de la Propriété Industrielle

OCDE : organisation de coopération et de développement économique

SNA : système nerveux autonome

DL₅₀ : dose létale provoquant 50% de mortalité

DI : diamètre d'inhibition

Organisme d'accueil

1. Présentation du groupe SAIDAL

SAIDAL est l'une des plus grandes sociétés algériennes par action avec un capital de 2.500.000 Da, sa mission principale est de développer, produire et commercialiser des produits pharmaceutiques à usage humain et vétérinaire. Sa vision réside dans sa capacité de se projeter dans le futur et assurer la position d'un laboratoire leader au niveau régional, national tout en perçant le marché international.

L'entreprise nationale de production pharmaceutique avait pour mission d'assurer le monopole de la production et de la distribution des médicaments, produits assimilés et réactifs ainsi d'approvisionner des quantités suffisantes pour la couverture du marché algérien

2. Historique

SAIDAL a été créée en Avril 1982 à la suite de la restructuration de la Pharmacie Centrale Algérienne (PCA) et a bénéficié, dans ce cadre, du transfert des usines d'El Harrach, de Dar El Beida et de Gué de Constantine. Il lui a été également transféré en 1988, le Complexe "Antibiotiques" de Médéa dont la réalisation venait d'être achevée par la SNIC (Société Nationale des Industries Chimiques).

En 1989 et suite à la mise en œuvre des réformes économiques, SAIDAL devient une entreprise publique économique dotée de l'autonomie de gestion.

En 1993, des changements ont été apportés aux statuts de l'entreprise, lui permettant de participer à toute opération industrielle ou commerciale pouvant se rattacher à l'objet social par voie de création de sociétés nouvelles ou de filiales. En 1997, la société SAIDAL a mis en œuvre un plan de restructuration qui s'est traduit par sa transformation en groupe industriel regroupant trois filiales (Pharmal, Antibiotical et Biotic). En 2009, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital de SOMEDIAL à hauteur de 59%.

En 2010, elle a acquis 20 % du capital d'IBERAL et sa part dans le capital de TAPHCO est passée de 38,75% à 44,51%.

En 2011, SAIDAL a augmenté sa part dans le capital d'IBERAL à hauteur de 60%.

En janvier 2014, Saidal a procédé une nouvelle organisation par voie d'absorption, par la fusion, de ses filiales Pharmal, Antibiotical et Biotic détenues à 100% .[1]

3. Les laboratoires de CRD

3.1. Laboratoire de pharmacie galénique

Chargé principalement de la formulation des médicaments génériques sous différentes formes (sèches, liquides, pâteuses et injectables).

3.2. Laboratoire de la chimie analytique

Chargé du contrôle de conformité des matières premières (principes actifs, excipients, articles de conditionnement...), du développement analytique et bio analytique par la mise au point de méthodes d'analyses performantes, leur validation et le suivi des études de stabilité des médicaments développés.

3.3. Laboratoire de pharmacotoxicologie

Chargé du contrôle de conformité des matières premières et des produits finis sur réactif animal par des essais de toxicités, de tolérance locale et des études de pharmacodynamie.

3.4. Laboratoire de microbiologie

Chargé du contrôle de conformité des matières premières et des produits finis par des essais des activités antibactériennes et de stérilité, de pureté et d'efficacité

4. Service de CRD

4.1. Service de documentation et d'information technique et scientifique

Chargé de la constitution d'un réseau fiable d'informations nécessaires à la réalisation des objectifs de développement et à sa mise à jour permanente.

4.2. Service assurance qualité

Chargé de la mise en place d'un système qualité et son entretien conformément aux normes internationales, de rendre compte de son fonctionnement en revue de direction pour servir de base à son amélioration.

4.3. Service des affaires réglementaires

Chargé de l'élaboration des dossiers pharmaceutiques et de l'enregistrement du nom commercial au niveau de l'Institut National de la Propriété Industrielle (INAPI).[2]

Introduction

générale

Introduction générale

Les algues appartiennent au groupe des Thallophytes .On distingue deux grandes catégories d'algues: les microalgues, organismes unicellulaires et les macroalgues. Ce sont les macroalgues qui, au niveau industriel, sont utilisées pour extraire les phycocolloïdes faisant l'objet de ce document: les alginates.

Les alginates sont des polymères hydrosolubles utilisés comme agent épaississant et gélifiant dans de nombreuses industries.[3] Les alginates sont des polysaccharides naturels extraits d'algues marines brunes et de bactéries. Etant biocompatibles, biodegradables, non toxiques et faciles à gélifier, les alginates peuvent être transformés en diverses formes, comme des hydrogels, des microsphères, des fibres et des éponges, et ont été largement appliqués dans le domaine biomédical[4]

L'intérêt accordé ces dernières années à l'étude des polysaccharides à base d'alginates par de nombreux laboratoires dans le monde se justifie par leur abondance dans la nature. L'importance des alginates se développe avec le temps grâce aux éléments responsables de leur hydratation, leur gonflement, leur plasticité, et ils confèrent à ces polymères des propriétés hydrophiles[5]

L'objectif de cette étude est Caractérisation physicochimique et étude pharmacotoxicologique des alginates extraites des algues locales ; en combinaison avec alginate commerciale.

Ce travail de mémoire a été réalisé au niveau du Centre de Recherche Développement SAIDAL de Gué de Constantine, elle est constituée de trois chapitres, le premier chapitre est consacré à la recherche bibliographie sur les algues et les alginates, Le second chapitre est réservé à la méthodologie suivie pour réaliser notre objectif, tandis que le dernier chapitre exprime les résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse

bibliographique

1. Les algues

1.1. Définition

Les algues sont des végétaux simples, le plus souvent unicellulaires, dont la taille est si petite que, dans bien des cas, on ne peut les voir qu'au microscope. Elles n'ont pas de racine et la grande majorité d'entre elles sont vertes car elles contiennent une concentration importante d'un pigment vert nommé chlorophylle. Toutefois, on retrouve également dans la nature des algues brunes, rouges, orangées ou jaunes. Il existe aussi quelques algues visibles à l'œil nu (ex.: algues filamenteuses) et d'autres qui ressemblent à des plantes aquatiques.[6]

Les macroalgues sont au nombre de 25 000 espèces dont seulement 50 sont exploitées à ce jour. Elles possèdent généralement un appareil végétatif clairement distinguable à l'œil nu et sont fixées sur un substrat rocheux à travers des crampons qui sont souvent recouverts de sécrétions riches en polysaccharides. Ces macroalgues peuvent, elles-mêmes, constituer un substrat pour de nombreuses communautés animales. La partie foliacée du thalle des macroalgues appelée fronde peut être sous forme de filaments, cordons ou lanières.[7]

La classification des algues repose sur plusieurs critères, il y a des critères biochimiques comme : la nature des pigments photosynthétiques, et la nature des polysaccharides réserve et des critères cytologiques comme : structure de noyau, mode de reproduction, complexité structurale, présence et structure de flagelles [8][9]. En général, les algues regroupent quatre groupes (algues vertes, algues rouges, algues brunes, algues bleus) qui sont différenciées par rapport à la couleur, chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces[10].



Figure 1: différents types des algues

1.2. Les algues en Algérie

En Algérie, les algues sont très peu connues dans quasiment tous les domaines. Leur intérêt commence à se manifester par le nombre de travaux que l'on recense et qui relatent les multiples perspectives qu'elles offrent pour la recherche et le domaine industriel. Sur toutes les côtes Algériennes (d'Ouest en Est), plus de 468 taxons ont été inventoriés à partir de la compilation des travaux anciens et récents. La flore algale de l'Algérie reste peu étudiée malgré une légère augmentation dans le nombre des algues répertoriées (497 espèces).[11]

Actuellement, on commence à découvrir donc leurs vertus et l'enjeu que cette ressource naturelle présente pour le développement du pays. L'investissement dans le développement du pays passe tout d'abord par la connaissance via l'inventaire de ces ressources algales des côtes Algériennes. Leur utilisation dans les divers secteurs va pouvoir valoriser ces ressources naturelles qui sont très prisées à travers le monde. En 2009, la production mondiale des macroalgues a atteint plus de 15 millions de tonnes, avec un taux de croissance estimé à 5,7 % par an [12]

1.3. Algue *Sargassum Vulgar*

Sargassum C. Agardh est un genre appartenant aux *Phaeophyceae* (algues brunes) décrit par C. Agardh en 1820. Ce genre est réparti mondialement et reconnu comme un des plus diversifiés de l'ordre des *Fucales*. Il est particulièrement bien représenté dans le Pacifique tropical et intertropical où il forme de grandes algues structurant un habitat essentiel pour de nombreux animaux et macro- ou micro-phytes. Certaines espèces représentent un intérêt économique, en particulier dans les pays asiatiques où elles sont exploitées par les industries agro-alimentaire, textile, cosmétique et pharmaceutique. Néanmoins, avec près d'un millier de taxons décrits depuis 200 ans, identifier une espèce de *Sargassum* est une tâche souvent difficile[13]. L'ensemble est polyphylétique et le terme « algue » n'a donc aucun sens phylogénétique [14]. Néanmoins, ce terme est toujours couramment employé pour des raisons évidentes de compréhension, à la fois par le *vulgum populéum* mais aussi par les scientifiques de la discipline[15]. Les *Phaeophyceae* constituent un ensemble monophylétique appartenant au règne des *Chromalveolata*, l'infra-règne des *Heterokonta* (aussi appelé *Stramenopiles*) et l'embranchement des *Ochrophyta*. Au sein des *Phaeophyceae*, le genre *Sargassum* appartient à l'ordre des *Fucales* et à la famille des *Sargassaceae*. La classification des sargasses dans l'arbre du vivant est donc le suivant: Empire: *Eukaryota* / Règne: *Chromalveolata*/ Sous règne: *Chromobiota* / Infra règne:

Heterokonta (Stramenopiles)/ Phylum: *Ochrophyta* / Classe: *Phaeophyceae* / Ordre: *Fucales* / Famille: *Sargassaceae* / Genre: *Sargassum*. Enfin le genre *Sargassum* est couramment divisé en quatre sous-genres (*Arthrophyucus* J. Agardh, *Bactrophyucus* J. Agardh, *Sargassum* et *Phyllotrichia* (Areschoug) J. Agardh) (J. Agardh 1889) eux même encore sous-divisés en plusieurs sections, sous-sections, séries et groupes d'espèces[16]

2. Généralité sur les alginates

Il existe une très grande diversité de biopolymères, parmi lesquels on trouve la famille des polysaccharides tels que les alginates et les produits chitineux, issus des produits marins. Ces biopolymères constituent une alternative intéressante dans le cadre du remplacement des polymères issus de la pétrochimie, car ils possèdent des propriétés physicochimiques et biologiques importantes. Ces propriétés trouvent des applications ciblées dans des domaines très variés notamment dans les secteurs de traitement des eaux, l'emballage, textile, l'agriculture, pharmaceutique, l'électronique, et biomédical.

Les alginates sont des polysaccharides naturels qui sont produites par des algues brunes.[17] Leur biodisponibilité élevée et leur procédé d'extraction facile expliquent leur faible coût. Les alginates sont largement utilisés dans différentes applications en raison de leurs propriétés polyvalentes pouvant être contrôlées selon différentes stimuli (concentration, température, pH, etc.). En solution aqueuse, les alginates sont généralement employés comme agents épaississants pour augmenter la viscosité du milieu[18]. En présence de cations (divalent ou trivalent), ils peuvent produire un hydrogel selon un mécanisme de complexation. La transformation est connue sous la désignation "gélification ionotropique"[19].

Les premières expériences sur l'extraction des alginates à partir d'algue brune, ont été réalisées par le chimiste anglais E. C. Stanford à la fin du 19ème siècle. En 1883, il découvrit une substance aux nombreuses et intéressantes propriétés, qu'il appela «algine». Son brevet, explique que l'alginate peut être obtenu en immergeant les algues dans de l'eau ou dans un acide dilué, puis extrait avec du carbonate de sodium et précipité à l'aide d'une solution acide.[20] Plus tard, en 1886, il l'identifie comme acide et la rebaptisa acide alginique. Il en conçut quelques applications industrielles, notamment dans le domaine alimentaire pour épaissir et gélifier des solutions : soupes, gelées, etc. Ce n'est qu'à partir des années 1930 que la première structure d'acide alginique fut proposée par Nelson[21]

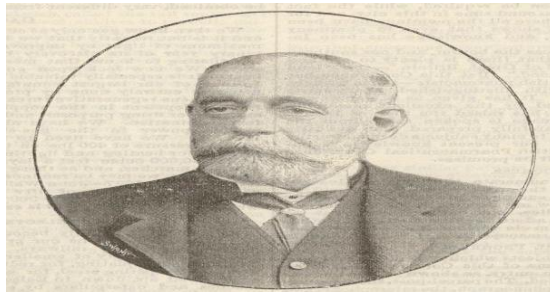


Figure 2: chimiste anglais E. C. Stanford

2.1. Définition d'alginate

L'alginate est un polymère linéaire de structure hétérogène [22] dérivé d'une source marine naturelle, il est aussi biodégradable et non toxique [23]. Il existe en algues brunes comme polysaccharide le plus abondant, comportant jusqu'à 40% de la matière sèche. Il est situé dans la matrice intercellulaire comme gel contenant le sodium, le calcium, le magnésium, le strontium, et les ions de baryum [24]. Les molécules d'alginate fournissent à la plante, à la fois flexibilités et forces : conditions nécessaires à sa croissance sous-marine. L'alginate est produit presque uniquement par les algues brunes des espèces *Sargassum vulgare*, *Laminaria*, *Macrocystis*, *Fucus*, *Phacophyceae*, *Ascophyllum*, *Ecklonie*, *Nercocystis*, *Durvillia*, *Chnoospora*, *Cystoseira* et *Turbinaria*. Cependant, certaines bactéries telles que *Azotobacter vinelandii* et plusieurs espèces de *Pseudomonas* sont susceptibles de produire l'alginate par des processus de fermentation microbienne suivis d'une polymérisation [25].

2.2. Localisation d'alginate

D'après Baardseth (1965), l'acide alginique se situe entre la lamelle moyenne et la paroi primaire de la cellule sous forme d'alginate de sodium, de calcium et d'alginate de magnésium. [26]

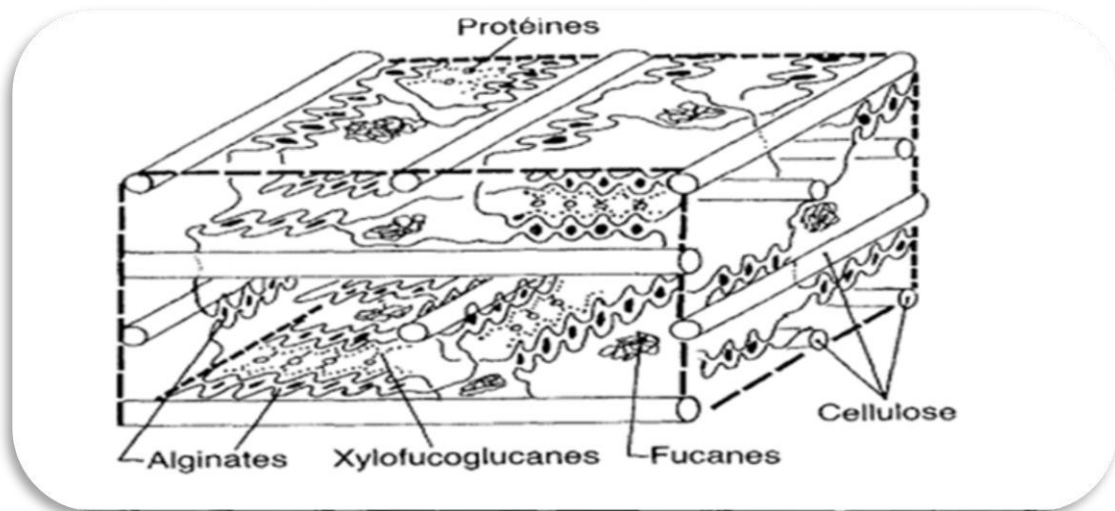


Figure 3: Modèle proposé pour l'organisation de la paroi chez les algues brunes.

2.3. Classification

Les alginates sont classés dans les colloïdes. En effet, le mot colloïde désigne toute substance comportant deux phases distinctes, et dont les particules d'une phase, discontinue, sont très petites, et diffusent dans l'autre phase. On distingue différentes catégories de colloïdes selon la nature des phases en présence.

Pour préciser la classification on peut définir l'alginate et la gélatine comme des hydrocolloïdes car ils sont solubles dans l'eau où ils se dissolvent pour former un gel avec des propriétés rhéologiques particulières.

Lorsqu'un colloïde est issu d'algues, on parle de phycocolloïdes. Une des sources majeures de la production d'alginate est une extraction à partir de certaines algues. On peut donc également regrouper l'alginate dans les phycocolloïdes.

Les principaux colloïdes extraits des algues sont des polysaccharides qui constituent généralement la matrice extracellulaire de ces organismes[27]

2.4. Structure chimique

Les alginates sont des copolymères binaires linéaires dont les monomères, l'acid β -D-mannuronique (Noté par la suite M) et l'acide α -L-guluronique (noté G), sont liés par des liaisons glycosidiques β - (1-4) et α -(1-4).

Les motifs M et G sont organisés en blocs, formant ainsi des séquences répétitives donnant leurs propriétés aux chaînes d'alginate. Comme présenté sur le schéma, ces blocs forment des régions homopolymériques de motifs M (appelés blocs M), de motifs G (appelés blocs

CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

G) ou des régions de structure alternée (blocs MG). Une hydrolyse partielle suivie d'un fractionnement peut permettre de séparer ces blocs.

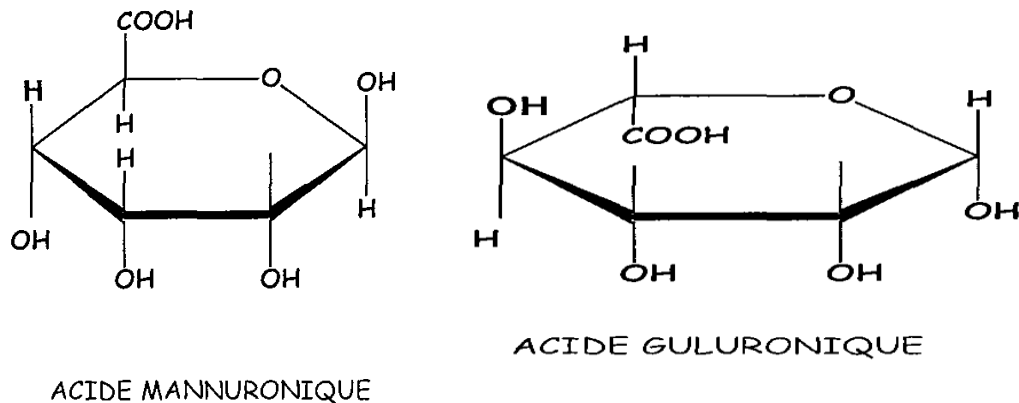


Figure 4: structure chimique d'alginate

La composition en monomères G et M de l'alginate influe directement sur ses propriétés physiques. Or, cette composition peut varier selon l'espèce d'algue dont il est tiré mais aussi par l'application de traitements biochimiques, comme par exemple l'action d'épimérases, enzymes transformant un type de monomères en son isomère : il est donc important de caractériser l'alginate utilisé[28]

2.5. Propriétés physique-chimiques

La plupart des alginates industriels ont un degré de polymérisation variant de 100 à 1000 soit un poids moléculaire compris entre 20 000g /mole et 200 000g/mole.

Dans le cas de l'alginate de sodium, il peut varier de 35 000 à 1 500 000.

La teneur en acide guluronique et en acide mannuronique est variable:

Le rapport acide mannuronique/acide guluronique varie de 0,5 à 2,5.

Parmi les phycocolloïdes, les alginates occupent une place tout à fait exceptionnelle en raison de leur caractère anionique lié aux groupements carboxyles $-\text{COO}^-$ et en raison de l'absence d'ions OSO_3^- . [29]

L'acide alginique, avec une constante de dissociation $\text{pK}=20.10^{-5}$ se situe entre l'acide acétique plus faible ($\text{pK}=1,15.10^{-5}$) et l'acide monochloroacétique plus fort ($\text{pK}=1,75.10^{-3}$)

A l'état pur, c'est une poudre blanche, inodore et sans saveur.

L'acide alginique est insoluble dans l'eau mais certains de ses sels de sodium, fer, lithium et d'ammonium sont solubles dans l'eau. [30]

2.5.1. Solubilité et viscosité

L'alginate de sodium, comme tous les sels d'alginate monovalents, est soluble dans l'eau pour des valeurs de force ionique faibles. Lorsque la salinité du milieu augmente, la solubilisation du polyanion est compromise. L'addition de sels tels que le chlorure de potassium (en quantités 1:1) va progressivement diminuer la solubilité de l'alginate dans l'eau jusqu'à la séparation de phases. Cela implique que la présence de sels dans l'eau peut avoir une forte influence sur la cinétique de solubilisation des alginates. Ceci est d'autant plus vrai dans le cas des ions di-ou multivalents qui vont non seulement augmenter la force ionique totale du système, mais aussi être capables de provoquer une agrégation à grande échelle des chaînes polymères (formation d'un réseau) pouvant aboutir à une séparation de phases.

Le pH de la solution joue aussi un rôle dans la solubilisation des alginates. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieure au pKa de l'acide mannuronique ($pK_a=3.38$) ou de l'acide guluronique ($pK_a= 3.65$), alors il peut y avoir séparation de phases voire formation d'un hydrogel

La sensibilité des alginates vis-à-vis du pH de la solution dépend non seulement de la masse molaire mais aussi de la composition chimique et de la séquence des blocs. Les alginates contenant plus de sections alternées (blocs MG) précipiteront à des valeurs de pH plus faibles que les alginates contenant plus de blocs homogènes (poly-M et poly-G)

2.5.2. Stabilité :

L'alginate sec, en poudre et pur de sodium peut avoir une stabilité de plusieurs mois et peut être stocké dans un endroit sec et frais loin de toute lumière du soleil. A basse température, l'alginate de sodium peut être gardé pendant plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire. En revanche, l'acide alginique sec a une stabilité très limitée aux températures ordinaires dues à la dégradation intramoléculaire

Vu leurs usages multiples, il est important de se rendre compte des facteurs qui déterminent et limitent la stabilité des solutions aqueuses d'alginate et des réactions chimiques responsables de la dégradation.[31]

La viscosité relative d'une solution d'alginate peut être sévèrement réduite sur une courte période dans des conditions favorisant la dégradation.

Puisque les alginates sont des produits naturels, beaucoup de micro-organismes peuvent les digérer[32]

2.5.3. Rapport M/G :

La qualité de l'alginate est appréciée par le rapport M/G. Ce rapport est fonction de l'espèce, de la variation saisonnière, de la partie et de la portion de l'algue brune en étude. Les algues brunes du genre *Sargassum* ont donné un taux élevé du bloc G et un faible pourcentage du bloc M ; tandis que les *Laminaires* ont une quantité énorme en bloc M, et faible en bloc G. Le rapport M/G des monomères se situe entre 0,25 et 2,25 selon l'espèce, l'organe, ou le tissu considéré. La structure primaire des alginates dépend donc du rapport M/G et des proportions relatives des trois types de blocs dans la chaîne[33]

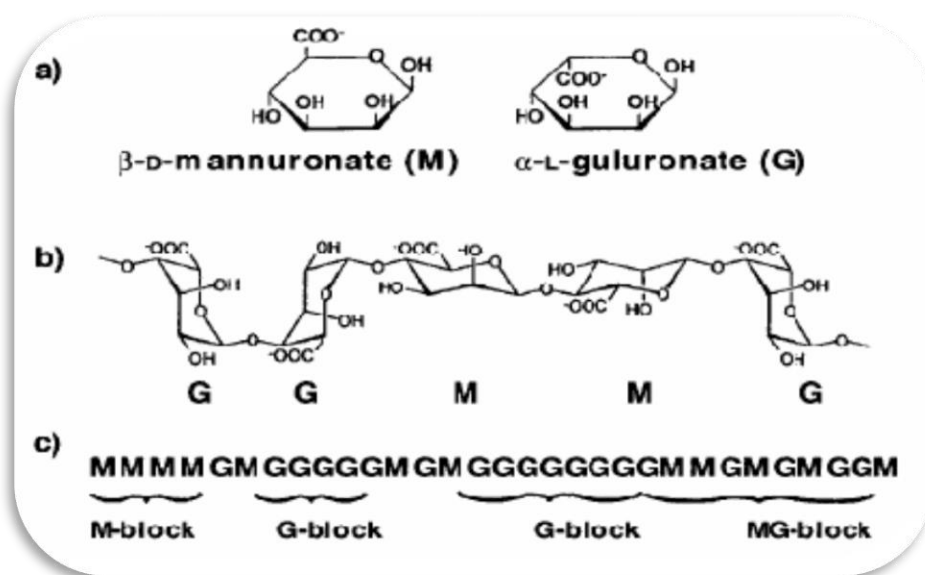


Figure 5: structure de l'acide mannuronique et guluronique

2.6. Caractérisation rhéologique des alginates

2.6.1. Principe La rhéologie

La rhéologie est une branche de la physique qui étudie l'écoulement ou la déformation des corps sous l'effet des contraintes qui leur sont appliquées, compte-tenu de la vitesse d'application de ces contraintes ou plus généralement de leur variation au cours du temps[34].

La façon dont la contrainte de cisaillement, τ , varie en fonction de la vitesse de déformation, dépend de la viscosité η (Pa.s) défini par :

$$\tau = \eta \cdot \gamma$$

CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les rhéogrammes sont les représentations graphiques permettant de traduire le comportement mécanique des fluides sous l'effet des cisaillements. Il existe différents comportements rhéologiques caractéristiques [35]:

- Les fluides newtoniens : Leur viscosité est indépendante de la contrainte appliquée

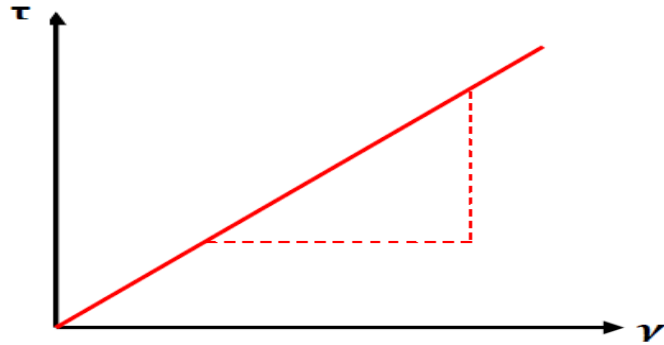


Figure 6: Rhéogramme d'un fluide newtonien

- Les fluides rhéofluidifiants: Leur viscosité diminue quand la contrainte de cisaillement ou la vitesse de déformation augmente

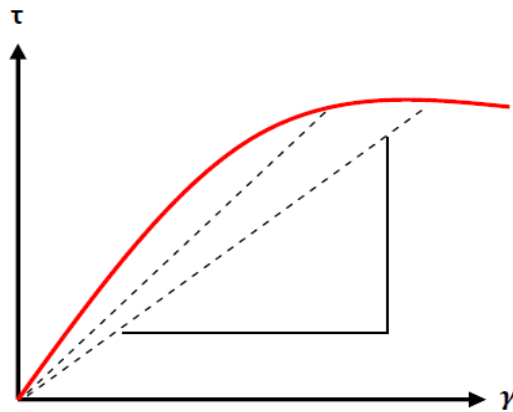


Figure 7: Rhéogramme d'un fluide rhéofluidifiant.

- Les fluides rhéoépaississants : Leur viscosité augmente quand la contrainte de cisaillement ou la vitesse de déformation augmente

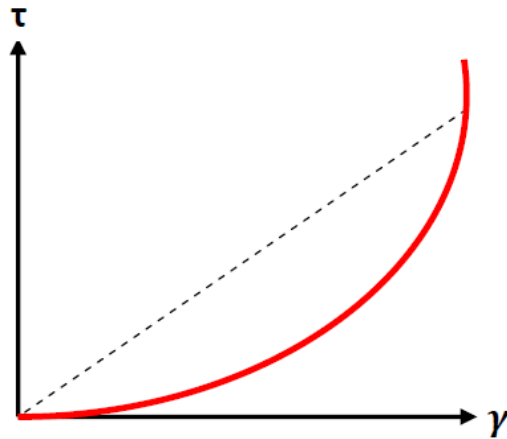


Figure 8: rheogramme d'un fluide rheoépaississant

2.6.2. Caractérisation rhéologique des alginates

La méthode la plus classique pour caractériser le comportement rhéologique d'un alginate en solution aqueuse est l'utilisation d'un rhéomètre. Les alginates ont en général un comportement quasi-Newtonien, même si des déviations peuvent être observées suivant plusieurs facteurs, notamment le type d'alginate, la concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne, etc.[36]

2.7. Notion sur la toxicologie

2.7.1. Définition d'une toxine

Une toxine est une substance capable de perturber, immédiatement ou à long terme de façon passagère ou durable le fonctionnement normal d'un organisme vivant, pouvant même entraîner sa mort.

En effet la toxicité consiste à la capacité d'une substance chimique de produire des effets nocifs chez un organisme vivant, ces effets sont liés à la dose, à la voie d'absorption et à la gravité des lésions ainsi qu'au temps nécessaire à l'apparition de celle-ci

2.7.2. Toxicité aigue

La toxicité aigüe peut donc se définir comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai suivant l'absorption par voie transtégumentaire, pulmonaire ou buccale, en une fois d'une dose assez importante d'un composé.

Pour caractériser la toxicité aigüe d'une substance généralement il faut déterminer sa dose létale 50 (DL₅₀)

La DL, est la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux mis en expérience. C'est-à-dire ayant reçus une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies [37]

CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1: échelle de la classification des substances toxique chez les rongeurs selon hodge et sterner.[38]

DL 50	Indice de toxicité
Jusqu'à 1mg /kg	extrêmement toxique
1 à 50 mg/kg	hautement toxique
50 à 500 mg/kg	modérément toxique
500 à 5000 mg /kg	légèrement toxique
5000à 15000 mg/kg	presque pas toxique
Plus 15000 mg /kg	relativement inoffensif

2.8. Notion sur l'activité anti inflammatoire

2.8.1. Définition L'inflammation

L'inflammation est un mécanisme de défense contre certaines agressions, d'origine infectieuse ou non infectieuse, L'inflammation est cliniquement définie comme un processus physiopathologique caractérisé par la rougeur, l'œdème, la fièvre, la douleur et la perte de fonction.

L'inflammation est une réaction des tissus vascularisés, permettant l'accumulation de plasma et de cellules spécialisées au site de l'agression. Dans ce processus, interviennent principalement les polynucléaires neutrophiles, les monocytes, macrophages et de nombreux médiateur[37].

2.8.2. Action anti-inflammatoire

Méthodes de réalisation des tests anti-inflammatoires

Les méthodes d'étude des anti-inflammatoires sont très nombreuses. Après avoir créé l'inflammation sur les animaux de laboratoire, les effets sur les différentes phases de l'inflammation sont recherchés.

➤ Inflammation locale de l'oreille

L'inflammation de l'oreille de rat, provoquée par l'application locale huile de croton peut être réduite par l'application locale de substances anti-inflammatoires

➤ Perméabilité capillaire chez le lapin

L'essence de térébenthine ou huile de croton est appliquée sur la peau épilée du lapin albinos. Une exsudation plasmatique est mise en évidence par l'injection intraveineuse de bleu trypan ou de bleu Evans qui se lie aux protéines plasmatiques. L'étendue de la tâche bleu cutanée

est proportionnelle à la perméabilité capillaire. L'étendue de la diffusion du bleu dans la substance fondamentale du derme est réduite en présence d'anti-inflammatoires.

➤ Œdème de la patte des souris

L'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure de souris provoque un œdème dont on peut ralentir le développement par un médicament anti-inflammatoire préventif

L'exsudation est évaluée par le gonflement de la patte postérieure du souris après injection d'un agent phlogogène (formol, olvabumine, carragénine), le diamètre de gonflement est ensuite mesuré à l'aide d'un pied à coulisse où la patte est pesée et son volume est estimé dans un plétysmomètre imaginé par Chevillard et Giano.

2.9. Activités antimicrobienne

2.9.1. Etude de l'activité antimicrobienne

La résistance aux antibiotiques est qui continue à défie le secteur de la sante .La découverte de nouveaux antibiotique et de nouvelle stratégie thérapeutique est nécessaire pour relever ce défi. Les progrès dans l'identification de nouvelles sources d'antibiotique naturels et l'expansion de la diversité chimique des antibiotiques fournissent des pistes chimiques pour les nouveaux médicaments.

Les antibiotiques à base de plantes représentent une grande source inexploitée de médicament. Les antibactériennes d'origine végétale ont un énorme potentiel thérapeutique. Les infections humaines en particulier celles implique des microorganismes, provoquent des infections graves dans les pays tropicaux et subtropicaux du monde en général les bactéries ont la capacité génétique à transmettre à acquérir une résistance a des médicaments qui sont utilisés comme agents thérapeutiques[39].

2.9.2. Etude de l'activité antifongique

Comme son nom l'indique, l'étude de l'activité antifongique d'un produit est la détermination de son pouvoir potentiel d'arrêter, ou de diminuer le développement d'un champignon pathogène. Cela de manière sélective et avec un minimum d'effets secondaires sur l'hôte. Cette étude est communément réalisée sur milieu gélosé.

Il existe une multitude de méthodes pour déterminer le pouvoir antifongique d'un produit. Parmi les méthodes les plus rencontrées, nous citons l'aromatogramme, la méthode des puits, la technique de contact direct et celle de la micro-atmosphère[40].

3. Principales applications des alginates

3.1. Application industrielles des alginates

La production industrielle d'alginate actuelle est d'environ 30. 000 tonnes par an pour une demande de 40.000 tonnes (Figure5), c'est-à-dire un peu moins de 10% du volume total disponible des algues d'origine naturelle chaque année. Si l'on ajoute à cela la possibilité de cultiver ces algues ou bien encore de les produire par fermentation, alors les ressources pour une production industrielle d'alginates sont considérables. Le coût des alginates peut être très différent selon la qualité de celui-ci. Un alginate non purifié, utilisé à des fins techniques, a un coût d'environ 1\$/Kg. Des grades plus techniques-purifiés et obtenus par fermentation microbienne-coûtent approximativement 20\$/Kg (grades purs pour des applications en galénique)[41].

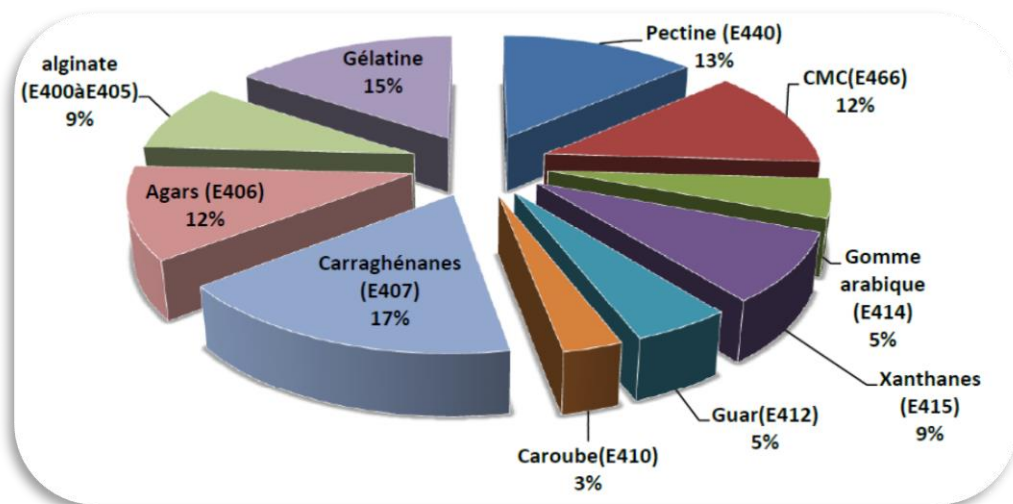


Figure 9: Pourcentage de la production de l'alginate[41]

Les alginates trouvent de nombreuses applications anciennes, actuelles ou en devenir dans différents types d'industries :

- 50% sont destinés à l'industrie textile pour l'impression et la consolidation des couleurs, ...etc.
- 30% concernant l'industrie alimentaire pour épaissir les sucres, pour maintenir la pulpe en suspension dans le jus de fruit...
- 6% concernent l'industrie du papier ;
- 5% sont utilisés pour la fabrication des électrodes de soudure électrique ;
- 3% à 4% pour les biotechnologies, secteur en forte progression ;

CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- 5% connaissent des utilisations diverses.

Ces applications sont la conséquence des propriétés de l'alginate. Celui-ci est un agent de texture polyvalent. Il peut être un épaississant (contrôle de la viscosité), un gélifiant, un stabilisant (notamment par rapport à la chaleur), mais aussi un réducteur de cristaux (produits surgelés) et un protecteur (films alimentaires). Il existe bien d'autres applications, telles que les matériaux d'empreintes dentaires, la préservation des racines d'arbres avant plantation, la protection des fruits...etc.[42].

Dans le tableau suivant, nous avons regroupé quelques utilisations d'alginate

Tableau 2: Quelques utilisations des alginates[42]

Domaine	Rôle alginate
Agroalimentaire	Agent texturant (épaississant ou gélifiant).
Travail du papier	Amélioration de l'uniformité de surface.
Production de céramique	Réduction du dessèchement des surfaces, stabilisant.
Pharmaceutique et biotechnologie	Immobilisation de cellules, diffusion contrôlés de principes actifs, dermatologie et guérison des plaies, empreintes dentaires.
Céramique du latex	Concentration du latex naturel durant son extraction.
Impression des textiles	Fixation, homogénéisation de l'impression, bons contrastes et couleurs des motifs imprimés.

Chapitre II :

Etude expérimentale

Ce chapitre est présenté afin de mettre en évidence l'expérimentation effectuée dans cette étude. Il comporte le matériel et les méthodes utilisées pour la caractérisation physicochimique de la matière première étudiée (Alginate naturelle et Alginate commerciale), l'étude microbiologie ainsi que l'étude pharmacotoxicologique de cette matière.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

L'espèce d'algue utilisée dans cette extraction est : *Sargassum vulgare* récolté à la plage de Sghirate – Boumerdes le 25/04/2021.

L'extraction des alginates a été réalisée par BALIA Imene et HIDECHÉ Soumia en 2021 dans le cadre de l'obtention d'un diplôme de Master en Génie Pharmaceutique au Centre Universitaire Morsli Abdellah De Tipaza. [43]

Les alginates de sodium extrait des algues brune est le matériel végétale utilisé dans cette étude.



Figure 10: Espèce d'algue *Sargassum vulgare*

L'étude actuelle est une suite du travail cité, dont l'objectif est l'étude pharmacotoxicologique des alginates extraits.

1.2. Matériel animale

L'espèce animale choisie pour cette étude était les souris de la souche NMRI de sexe male, de poids compris entre 18 et 22g (20 ± 2)

Ces souris sont fournies par l'Institut Pasteur d'Alger .Les souris étaient élevée au sein de l'administration de centre de recherche et développement Saidal à température ambiante, une température plus ou moins constante 22 ± 2 C° et de humidité 50% et un éclairage de 10h et un rythme nycthéméral de 12h /12h .Les souris ont accès libre à la nourriture de type aliment standard et l'eau potable.

1.3. Réactifs et matériel de laboratoire :

Les réactifs et les équipements utilisés et leurs marques sont regroupés dans le tableau :

Tableau 3: matériel et produits utilisées :

Equipement		Réactifs		Verrerie
Nom	Marque	Nom	Marque	Nom
Balance Electronique	(kitchen scale)	Alginate commerciale	SIGMA-ALDRICH®	Becher
Etuve	MF 120 ulive	Declofinac	Saidal	Spatule
Four a moufle	Nuve MF 120	Caragennine	Saidal	Pince stérile
Pied à coulisse		Éthanol	biocheme	Seringue
Rhéomètre	Visco Tester VT550	Chlorure de calcium	biocheme	Sonde gastrique
Spectrophotomètre	Jenway	Eau physiologique 0,9%	Saidal	Boite a pétrie
Spectroscopie IR				Pipette pasteur
Balance pour animaux	MU.LU.012			Bistouri et ciseau

2. Méthodes

2.1.Caractérisation physico-chimique des alginates de sodium étudié

La caractérisation physicochimique des deux échantillons d'alginate (extrait et commercial) est réalisée premièrement, pour comparer entre les deux échantillons. Et aussi pour vérifier leur conformité à l'usage pharmaceutique en se référant aux exigences de la pharmacopée Européenne.

La caractérisation physico-chimique est réalisée au sein de laboratoire de Biochimie, Département de génie des procédés (UMBB).

2.1.1. Caractérisation organoleptique

L'aspect des deux échantillons d'alginate est déterminé par examination de la couleur, l'odeur, et de la forme.

2.1.2. Identification

L'identification des deux échantillons d'alginate (extrait et commercial) est réalisée selon les recommandations de la pharmacopée européenne .[44]

Deux tests d'identification ont été réalisés comme suit :

- ✓ Dissolvez 0,2 g d'alginate de sodium dans 20 ml d'eau en agitant (A). A 5 ml de cette solution, ajoutez 1 ml de solution de chlorure de calcium. Il se forme une volumineuse masse gélatineuse.
- ✓ Dissolvez 0,1 g d'alginate de sodium dans 10 ml d'éthanol (96%)

2.1.3. Détermination de la teneur en humidité d'alginate

Peser 0,1 g d'alginate de sodium puis mettre à l'étuve à 105 °C pendant 4 h.

L'humidité a été déterminée par l'équation suivante :

$$H\% = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_0} \times 100 \quad (1)$$

P₀ : la masse du creuset vide.

P₁ : la masse du creuset plus échantillon avant le séchage.

P₂ : la masse de la capsule plus échantillon après le séchage.[45]

2.1.4. Détermination la teneures en cendre

Peser 2 g d'alginate dans des capsules en porcelaine, puis les introduire dans un four à moufle à 525 °C .l'incinération est poursuivie jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres

La teneur en cendres est exprimée en pourcent du poids de la prise d'essai par la formule suivante

$$C\% = \frac{P_2 - P_1}{P_1 - P_0} \times 100 \quad (2)$$

C : la teneur en cendres

P₀ : le poids de la capsule vide

P 1: le poids du creuse avec l'échantillon avant incinération

P2: le poids des cendres après incinération à 525 °C en (g) + le poids de la capsule[45]

2.1.5. Détermination des teneurs en minéraux

Les cendres ont été solubilisées par 2 ml de HCl à 0,5 N. Evaporer à sec sur plaque chauffante, puis mettre à l'étuve à 105 °C pendant une heure environ pour insolubiliser la silice, reprendre par 1 ml de HCL au 0,5 N. Filtrer et rincer la capsule et le filtre, et amener à 50 ml dans une fiole jaugée par l'eau distillé puis filtrée, un volume de cette solution est pulvérisé dans un photomètre à flamme. Une partie des ions soumise à la chaleur de la flamme passent dans un état excité .le retour à l'état fondamentale des électrons de la couche externe s'effectue avec émission caractéristique de l'ion en présence .la photométrie de flamme repose sur le fait que l'intensité de l'émission est proportionnelle au nombre d'atome retournés à l'état initial. La lumière émise est donc proportionnelle à la concentration de l'échantillon. En conséquence les concentrations des ions analysés (Sodium Na, Calcium Ca, Potassium K) sont affichées en ppm sur l'écran de l'appareil.

Les teneurs en minéraux dans les deux échantillons étudiés sont déterminées en se référant aux courbes d'étalonnage des minéraux analysés (Sodium Na, Calcium Ca, Potassium K) préparés à différentes concentration (0,003mg/l ; 0,006mg/l ; 0,009mg/l ; 0,011mg/L ; 0,014 mg/l)



Figure 11: photomètre à flamme

2.2.Caractérisation par spectroscopie Infra Rouge

La spectroscopie correspond à l'étude de l'interaction d'une onde électromagnétique avec la matière. Cette interaction est caractérisée par un échange d'énergie. La spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon. Le domaine infrarouge est la région du spectre située entre le visible et les micro-ondes.

Ce domaine est découpé en trois parties: le proche infrarouge, le moyen infrarouge et le lointain infrarouge. Dans le cas présent, le domaine de l'infrarouge considéré est celui du moyen infrarouge qui s'étend de 4000cm^{-1} à 400 cm^{-1} . Pour qu'une absorption d'énergie puisse avoir lieu, il faut que la fréquence de l'onde lumineuse (nombre d'onde) soit égale à la fréquence de vibration de la liaison moléculaire. Dans ce cas, un phénomène de résonance est observé entre la molécule et l'onde ainsi qu'un transfert d'énergie. Chaque liaison moléculaire a sa fréquence de vibration propre, la mesure de l'absorbance permet d'obtenir des renseignements sur la nature du groupement chimique et sa proportion.

L'échantillon est préparé par broyage de 5mg d'alginate avec 300mg de KBr, et le presser pour former une pastille de KBr compacte. Cette dernière est placée dans le spectrophotomètre IR. Le spectre obtenu est analysé par le logiciel FTIR. [46]

Nos échantillons ont été analysés à l'USTHB.

2.3. Etude du comportement rhéologique

Un rhéomètre a été utilisé pour étudier le comportement rhéologique de la solution d'alginate extraite et commercial à différentes concentrations (0,02/0,04/0,06/0,08 mg /ml). L'analyse rhéologique a été réalisée avec un rhéomètre VT550 (ViscoTester VT550) équipé d'une géométrie de mesure à conne plans (géométrie pk 1 1°) (voir figure 13) Le rhéomètre est couplé à un ordinateur moyennant le logiciel qui permet une analyse ultérieure des données. Les mesures sont réalisées à 20°C. Le protocole utilisé consiste en une variation linéaire de la vitesse de cisaillement entre 0 et 600 s-1 et un pré-cisaillement de 180 secondes.[47]

Un échantillon d'épaisseur e (goutte de 1ml) est cisailé entre deux surfaces (conne plan). Une des plaques est au repos et l'autre se déplace tangentiellement par l'application d'une force F . Le cisaillement déforme le matériau qui s'écoule en couches planes. L'étude est réalisée à l'unité de recherche Matériaux, Procédés et Environnement (UMBB)

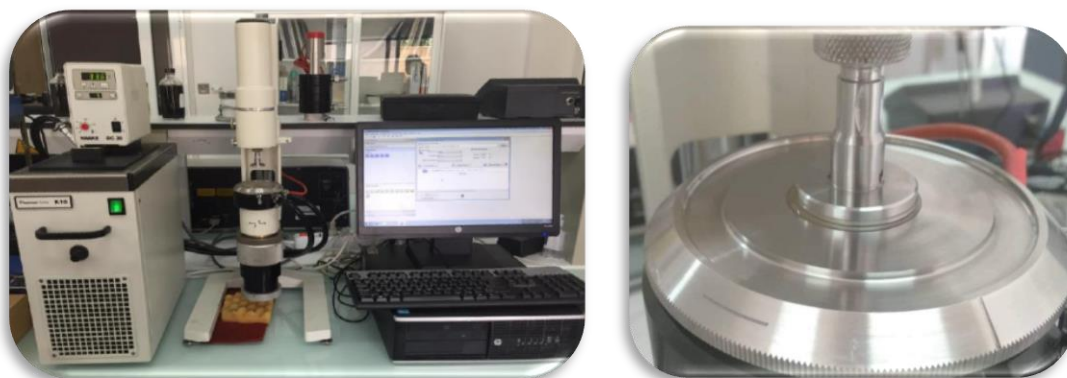


Figure 12: Rhéomètre utilisé

2.4.Étude biologique

L'étude biologique est réalisée au niveau de centre de recherche CRD SAIDAL

2.4.1. Etude microbiologique

Ce travail a été réalisé pour étudier les propriétés antibactériennes et antifongiques des échantillons d'alginate étudiés.

L'étude a été testée selon la méthode de l'aromatogramme (méthode de diffusion sur milieu nutritif)[40]. Les étapes de l'étude sont les suivants

a) Préparation de l'inoculum

Pour les bactéries

- A partir de cultures jeunes de 18 h, réaliser des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05 ml d'eau physiologique stériles.
- Agiter au vortex pendant quelques secondes.
- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être entre (22% - 32%), ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 germes/ml.

Les souches utilise sont donnees par (le tableau 4).

Tableau 4: souches bactériennes utilisées dans l'analyse microbiologie

Bactérie	Souche	Référence
Gram -	Escherichia coli	ATTC 8739
Gram +	Staphylococcus aureus	ATTC 6538

Pour les levures

- A partir de cultures jeunes de 48h, réaliser des suspensions en prélevant colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05 ml d'eau physiologique stériles
- Agiter au vortex pendant quelques secondes
- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être entre (22% - 32%), ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 germes/ml.

Les souches fongiques utilise dans l'analyse antifongique sont la Candida Albicans (ATCC10231) et Saccharomyces (ATCC9763).

a) Préparation de la 1ere couche du milieu

- Faire fondre le milieu gélose Muller-Hinton et le Sabouraud dans un bain marie à 95°C
- Verser aseptiquement une 1ere couche dans les boites de pétri à raison de 15 ml par boite avec 03 répétitions par souche
- Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse

b) Préparation de la 2^{eme} couche du milieu

- faire fondre le milieu gélose Mueller-Hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C
- Baisser la température jusqu'à 45°C
- Remplir des flacons en verres stériles avec 50 ml de Muller-Hinton pour les bactéries, et avec 50 ML de sabouraud pour les levures pour chacun des souches
- Ensemencer les milieux de culture avec 200 µl de chaque suspension
- Agiter manuellement les flacons
- Traverser rapidement 4ml de chaque milieu inoculé en 2eme couche sur la surface des boites contenant déjà la 1 ère couche de gélose.
- Etaler rapidement en faisant pivoter la boite sur elle-même pour avoir une surface uniforme
- Laisser solidifier sur la paillasse

c) Dépôts des disques :

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque stérile, l'imbiber avec l'alginate synthétiser et 2^{eme} disque avec alginate commerciale, en mettant seulement en contact avec le bout du disque celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque.

d) Lecture

L'évaluation qualitative des alginates est exprimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse obtenue après incubation pour chaque souche microbienne. Le résultat de l'étude est déterminé en se référant au tableau 5.

Tableau 5: Zones d'inhibitions et leurs sensibilités[48]

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible (-)	Diamètre < 8mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible	Diamètre compris entre 14 à 19mm
Extrêmement sensible	Diamètre > 20mm

2.4.2. Etude de la toxicité aigüe

L'étude de la toxicité aigüe est une analyse qualitative et quantitative de l'altération des fonctions vitales après administration unique d'une substance dans un délai de quelques minutes à quelques jours (2 à 4 semaine). C'est le premiers test effectuer sur un nouveau composé destine à être utilise comme médicament

Les méthodes traditionnelles pour évaluer la toxicité aigüe utilisent comme effet observé la mort des animaux et la détermination de la dose (létale DL50) c'est-à-dire la dose unique qui provoque la morte de 50% des animaux traités.

La procédure utilisée dans cette étude est celle validée et enregistrée par le CRD SAIDAL (l'OCDE n° 423 adoptée le 17 décembre, 2001).

Principe

Une dose déterminée de la substance est administrée par voie orale à un groupe d'animaux. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée détermine l'étape suivante, c'est-à-dire :

- Arrêt de l'essai
- Administration de la même dose aux animaux supplémentaire
- Administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à un animal supplémentaire.

Protocole :

Un effectif de 3 souris malle est répartir selon l'homogénéité de leurs poids sur 1 lot de 3 souris (22-23g de poids). Après une nuit de jeûne (environ 16h), l'administration de l'extrait s'est effectuée par voie orale et en une seule dose (0.5 ml par souris).

- Lots 1: reçoivent la dose 2000mg/kg de l'extrait d'alginate dissous dans l'eau distillé.

Après l'administration de la substance, les animaux étaient à nouveau privés de nourriture, pendant 1 à 2 heures. L'intervalle de temps entre l'administration de chaque niveau de dose a été fixé à 24 heures au minimum.



Figure 13: administration de l'alginate de sodium extraite

Observation

Après administration des extraits, les animaux ont été d'abord mis en observation 2 heures avant de leur donner à manger et à boire (pour noter les cas de morts immédiates)

Pendant les deux semaines, les animaux ont été observés non seulement pour enregistrer les cas de mort, leur temps, mais aussi pour enregistrer contemporanément dans le temps l'apparition, l'intensité et la durée d'éventuels effets au niveau du, SNA (système nerveux autonome) et des modifications du comportement, de l'activité somato-motrice, de la peau et des poils.

L'attention se portait en particulier sur l'observation des diverses manifestations de tremblement, convulsion, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil et coma.

2.4.3. Activité anti-inflammatoire (In Vivo)

Afin de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'échantillon d'alginate de sodium extraite, une étude in vivo a été réalisée, la méthode utilisée est celle de l'œdème de la patte de souris [39]

Principe

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant

✚ Méthode

Un œdème aigu est provoqué au niveau de l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche de la souris par injection d'une solution de carragénine. Les souris ont été mises à jeun pendant 16 h avant l'expérimentation et répartie en 3 lots de 3 chacun (mâle).

Les différents produits sont administrés par voie intra-gastrique (0.5mL par souris) à l'aide d'une sonde gastrique selon les posologies suivantes[49]:

Constituer 3 lots de 3 souris chacun

- Un lot témoin
- Un lot essai 1
- Un lot essai 2

➤ Au temps T₀

Administrer aux trois lots la suspension suivante :

- Lot témoin : chaque souris reçoit d'eau distillée
- Lot essai 1 : chaque souris reçoit diclofenac 75mg
- Lot d'essai 2 : chaque souris reçoit 0,5ml d'alginate (extraite)



Figure 14: Administration d'alginate de sodium

➤ Au temps T₀ +30 min

Injecter la solution de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience



Figure 15: administration de la carragénine dans la patte arrière gauche

➤ **Au temps T_0+4 h**

- Sacrifier les animaux par rupture de la nuque
- Couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique

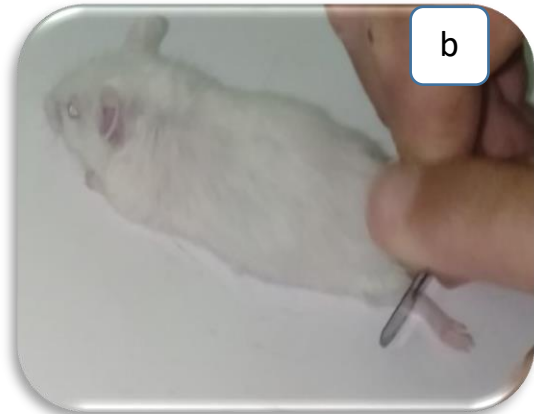


Figure 16: (a) Sacrifice des animaux par rupture de la nuque, (b) Coupe les pattes Postérieures



Figure 17: la peser des pates sur une balance analytique

 Expression des résultats

Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.

Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (%d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de patte droite}}{\text{moyenne des poids de la patte droite}} \quad (3)$$

Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins.

$$\text{Pourcentage de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \quad (4)$$

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Caractéristiques physico-chimiques des alginates de sodium

Dans cette partie de travail, deux comparaisons ont été réalisées. Une première comparaison des résultats obtenus pour les deux échantillons d'alginate étudiés aux normes d'utilisation des alginates dans le domaine pharmaceutique selon la pharmacopée européenne.

La deuxième comparaison, faite entre les deux échantillons d'alginates commercial et extrait afin de valoriser l'alginate extraite à partir des algues locales.

1.1. Identification :

L'identification des deux échantillons d'alginate (extrait et commercial) est réalisée selon les recommandations de la pharmacopée européenne.

La formation d'une masse gélatineuse des deux échantillons dans l'eau et leurs insolubilités dans l'éthanol confirme l'identification des échantillons. D'après la pharmacopée européenne, il s'agit bien des alginates[44].

1.2. Caractéristiques organoleptiques

Le tableau suivant représente les résultats de la caractérisation organoleptique des deux échantillons d'alginates étudiés

Tableau 6 : caractéristiques organoleptiques d'alginate de sodium

Alginate	Odeur	aspect	couleur
Extraite	l'eau de mer	poudre	jaune pale
Commerciale	Inodore	poudre	blanche
Norme [50]	inodore	Poudre	Poudre blanche ou brun-jaune pâle.

Les deux figures ci-dessous montrent l'aspect granuleux de la poudre d'alginates extraite et commerciale.

La différence de couleur et d'aspect dans les deux échantillons étudiés peut être expliquée par la différence de la provenance d'alginate (type d'algue), la méthode d'extraction et surtout la purification de l'extrait.



Figure 18: différents types d'alginate : (a) extraits, (b) commerciales

1.3. Caractéristique physique d'alginate de sodium

1.3.1. La teneur en humidité

Le résultat de la teneur en humidité d'alginate extraits est supérieur à la valeur de la norme, tandis que l'alginate commercial est conforme à la norme (la valeur de la norme 15%) [50].

Cette valeur dépend de plusieurs facteurs tels que le milieu de stockage, du type d'algues dans laquelle nous avons extrait notre échantillon ou du processus d'extraction.

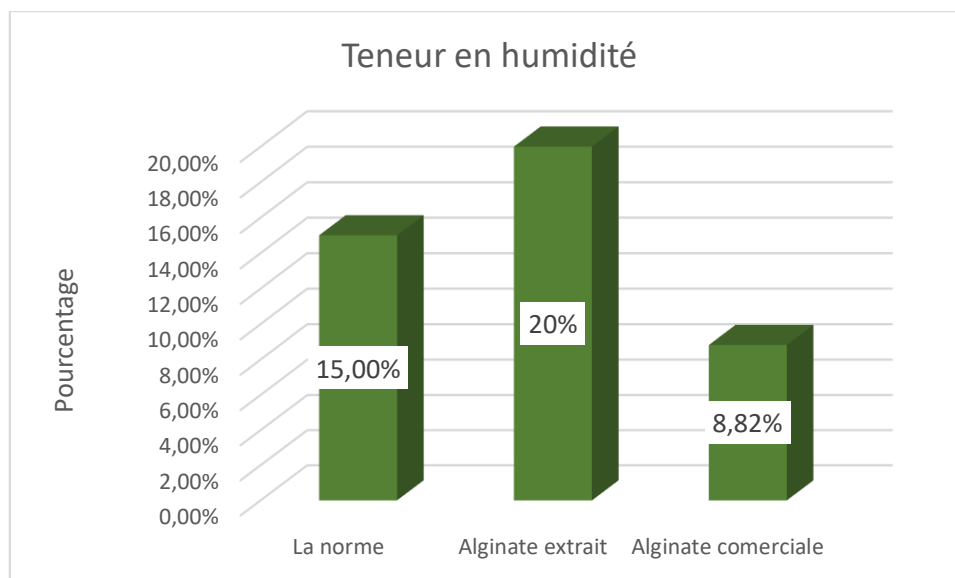


Figure 19: teneur en humidité des alginates par rapport à la norme

1.3.2. Détermination de la teneur en cendres :

Cette analyse permet de déterminer la matière inorganique ou minérale contenue dans l'alginate.

La teneur en cendre moyenne est de (36%), d'après la littérature, donc notre échantillon est conforme à la norme [50]

On remarque qu'on a une différence de teneur en cendre entre l'alginate commercial et l'alginate extraite, cette différence dépend du traitement d'alginate.

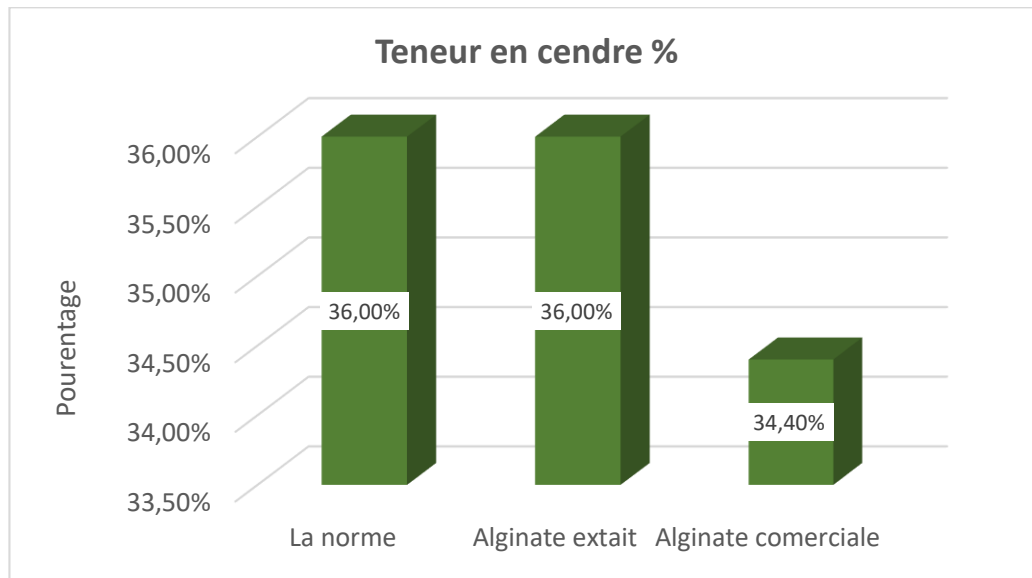


Figure 20 : teneur en cendre des deux alginate.

1.4.Caractéristique chimique

1.4.1. Détermination de la teneur en minéraux

D'après la littérature la teneur en minéraux de l'alginate est varié entre 18 et 40 [51], notre résultat correspond à l'intervalle. L'analyse des cendres par photomètre de flamme nous a permis d'évaluer les teneurs en sodium, calcium et potassium en se référant aux courbes d'étalonnages de ces éléments (figures 22 et 23)

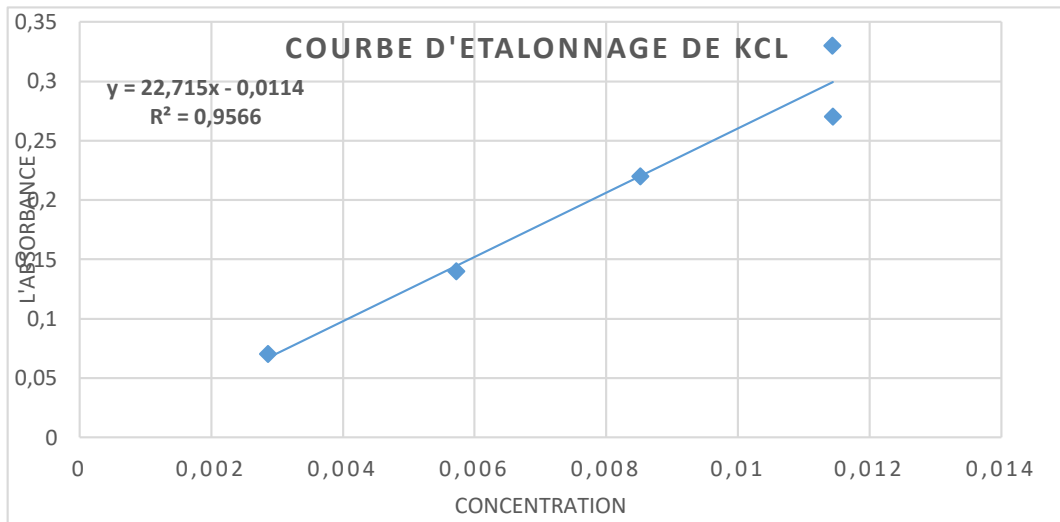


Figure 21: courbe d'étalonnage de Kcl

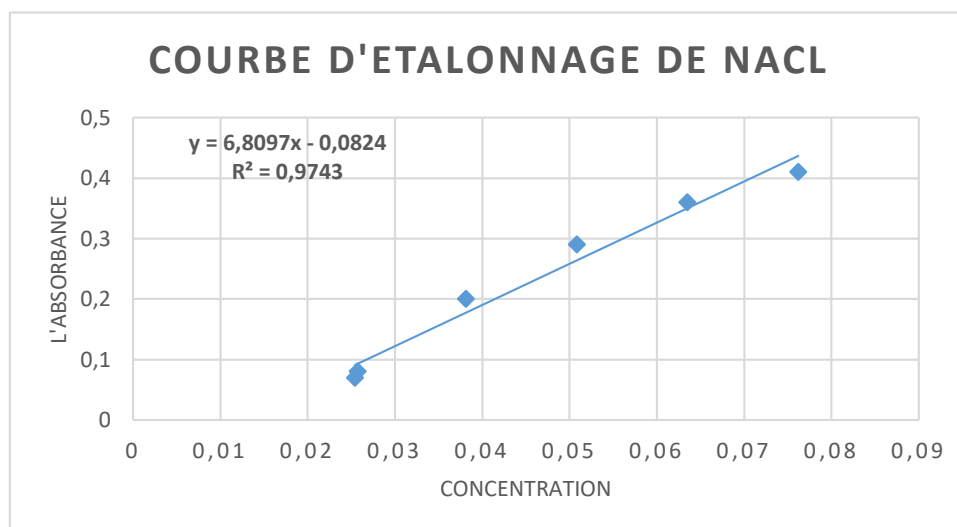


Figure 22: courbe d'étalonnage de Nacl

On remarque une teneur élevée en sodium ce qui confirme le type de ces alginates (alginates de sodium) et l'absence de calcium dans les deux échantillons étudiées ce qui confirme sa qualité pour usage pharmaceutique selon la pharmacopée européenne qui limite la teneur en calcium (au maximum 1,5%)ppm.[50]

La déference de teneur en Na dans les deux échantillons dépend de la quantité de sodium contient dans l'algue brune et aussi dépend de traitement lors l'extraction.

La figure ci-dessous représente les teneurs en minéraux des deux échantillons étudiés:

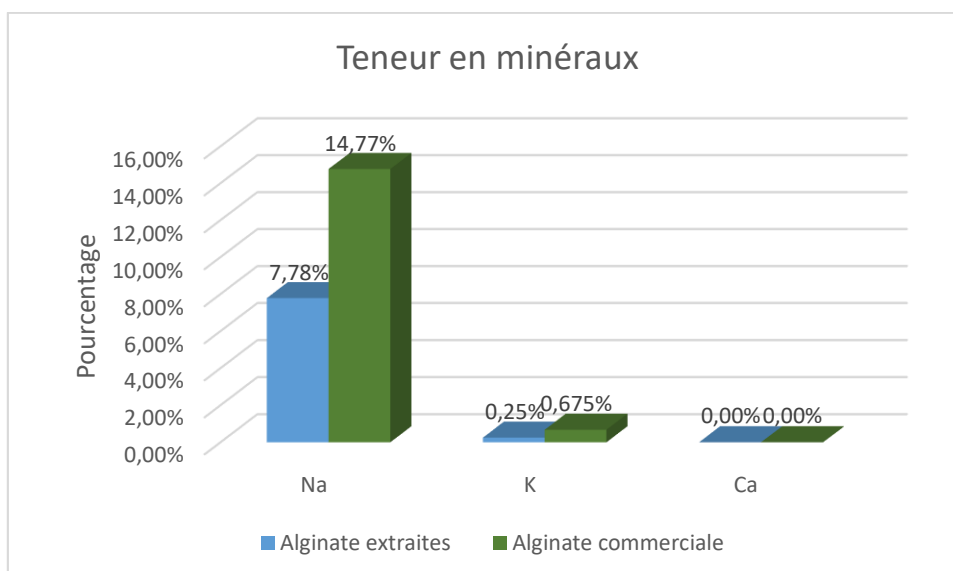


Figure 23: teneur en minéraux des alginates

1.4.2. Résultat de la caractérisation spectroscopique infra rouge

L'analyse des alginates par spectroscopie infrarouge (FTIR - ATR) nous a permis de déterminer les groupes fonctionnels caractéristiques présents dans les alginates extraits étudiés par rapport au spectre IR de l'alginate commerciale.

Les résultats sont présentés dans les graphes suivants. Les spectres IR de alginate commerciale et extrait contient une large bande d'adsorption dont le maximum est situé à 3200 cm^{-1} cette bande est caractéristique du groupement (O-H), mettent en évidence la présence d'une bande très intense à 1600 cm^{-1} relative à l'élongation asymétrique du carboxylate (COO^-) ce qui confirme la haute teneur en acide uronique de ces bio polymères. La bande à 1415 cm^{-1} est attribuée à une vibration de déformation C–OH et à une vibration d'élongation symétrique du groupe (COO^-), les deux alginates présentent aussi, à 1022 cm^{-1} , la bande de la plus intense pour les deux alginates correspondant au groupement CO à 600 cm^{-1} . Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate en milieux aqueux dépendent de leur structure, c'est-à-dire de la proportion des résidus mannuroniques par rapport à ceux guluroniques (rapport noté M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG. Les unités guluronique donnent une bande à environ 1030 cm^{-1} , tandis que les unités mannuronique forment une bande à 1093 cm^{-1} [52]. D'après d'autres auteurs e pic caractéristique du groupement mannuronique apparait à 1125 cm^{-1} et de groupement guluronique apparait à 1030 cm^{-1} . [53] En effet dans notre travail il y a une large bande entre 1000 cm^{-1} et 1030 cm^{-1} qui

sont de l'acide guluronique et mannuronique. Et d'après notre comparaison on voit que les deux alginates ont la même structure chimique et que les deux alginates sont des alginates de sodium.

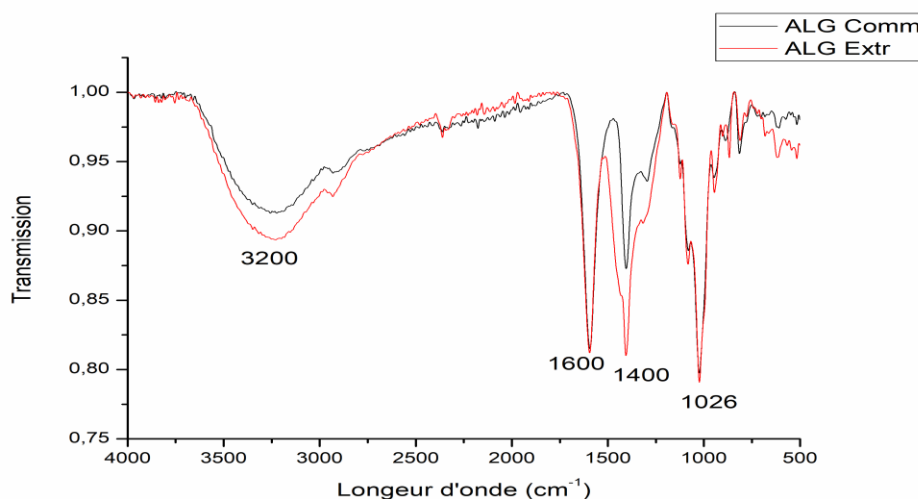


Figure 24: spectre IR d'alginate extrait et commerciale

1.4.3. Résultats de l'étude rhéologique

Nous présentons dans cette partie l'étude des propriétés rhéologiques à différentes concentrations des alginates extraite et commerciale. Les graphes suivants représentent les courbes d'écoulement en termes de viscosité apparente η en fonction de la vitesse de cisaillement γ .

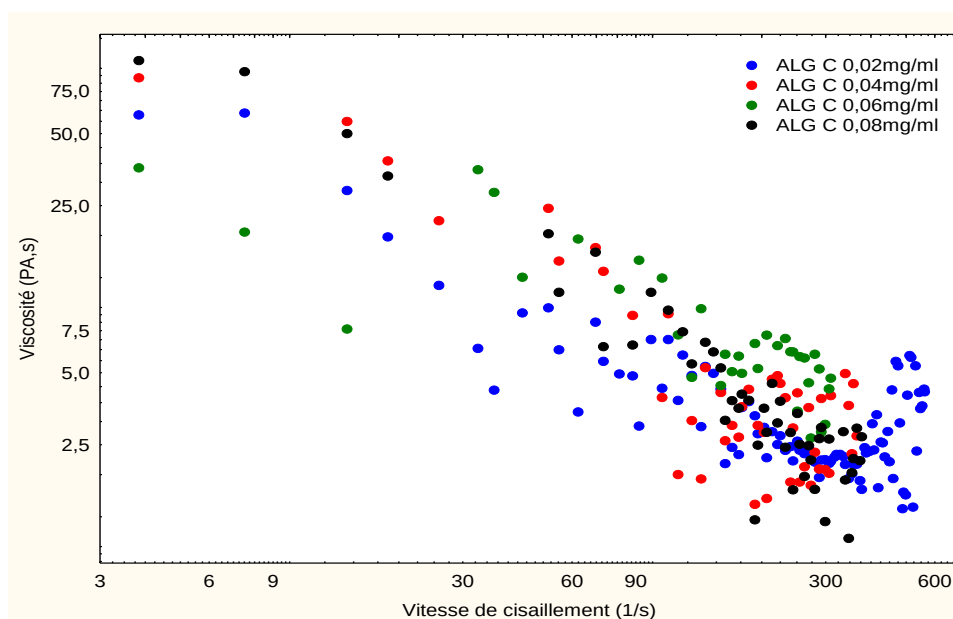


Figure 25: Courbe d'écoulement de l'alginate commerciale à différentes concentrations

La figure 25 représente les courbes d'écoulement de l'alginate commercial à différentes concentrations (0.02, 0.04, 0.06, et 0.08mg/ml). Nous remarquons que les quatre échantillons ont le même comportement rhéologique qui est le comportement rheofluidifiant (non newtonien). La viscosité augmente proportionnellement avec la concentration ce qui est expliqué par la présence d'une grande densité d'interaction entre les chaîne de polymère (liaison OH) qui sont détruits sous l'effet d'une augmentation de la vitesse de cisaillement.

La morphologie des échantillons préparés n'est pas bien structurée ce qui indique la non homogénéité des préparations à l'exception de l'échantillon de concentration 0.08mg/ml.

Pour le rheogramme d'alginate extrait (figure 26) nous remarquons que les préparations sont mieux structurées et plus homogènes que les préparations commerciales. Le comportement rhéologique est aussi un comportement rheofluidifiant avec des viscosités très proches à l'état initial. La particularité est très bien illustrée pour la courbe d'écoulement de la préparation à 0.08mg/ml d'alginate extraite, c'est une courbe bien structurée est présente un palier newtonien à des faibles vitesses de cisaillements. Ce palier interprète la stabilité de la préparation au repos.

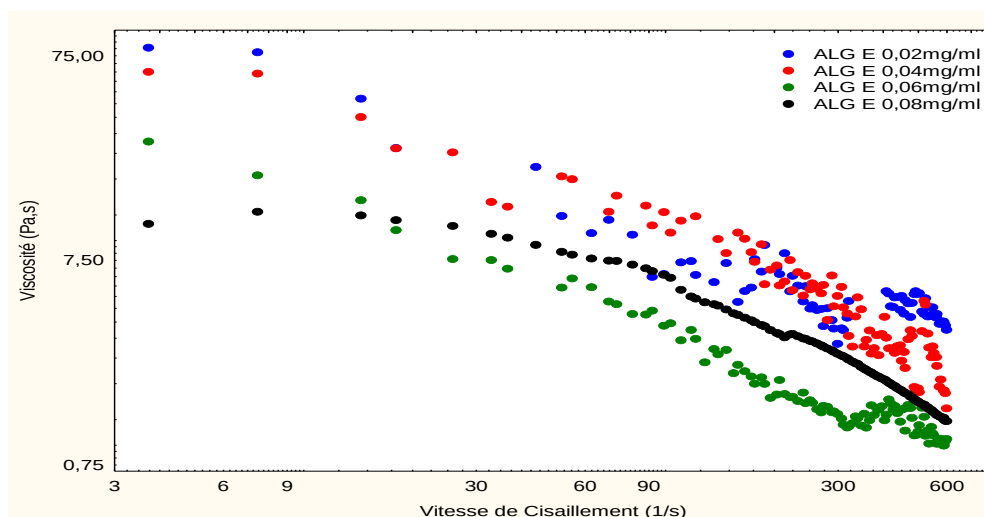


Figure 26: Courbe d'écoulement de l'alginate extraite à différentes concentrations

Une comparaison entre l'alginate commerciale et extraite est réalisée en comparons les courbes d'écoulements des deux préparations à 0.08mg/ml d'alginate commerciale et extraite. Les deux courbes sont représentées par la figure 27. Une différence de viscosité à l'état initiale est remarquée, c'est une différence d'ordre de 10.

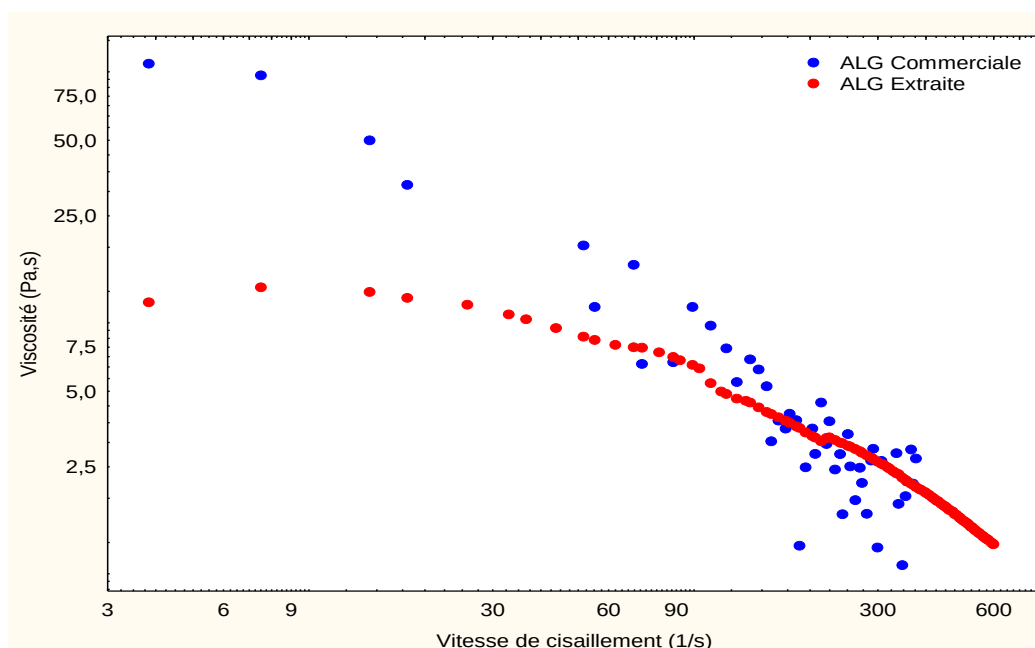


Figure 27: Courbe d'écoulement des alginates commerciale et extraite à 0.08mg/ml

2. L'analyse pharmaco-toxicologique

2.1. Activité microbiologique

Le tableau suivant représente les résultats de diamètre d'inhibition de déférente souches utilise dans notre analyses sur les deux échantillons.

Tableau 7: résultats de l'étude microbiologique des alginates.

souches	DI d'alginate extraite	DI d'alginate commerciale
<i>Escherichia coli</i>	<9 R	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	12
<i>Candida albicans</i>	12	R
<i>Saccharomyces</i>	<9 R	R

R : résistance

Nos extraits ont été testés in vitro pour évaluer leur activité antibactérienne et antifongique. L'activité antibactérienne de l'extrait d'alginate extraite et commerciale a été mise en évidence par la méthode de l'aromatogramme (méthode de diffusion sur milieu gélose) et a été évaluée qualitativement et quantitativement en fonction de la présence ou l'absence de zones d'inhibition, le diamètre de la zone (DD) pour les deux extraits contre 4 souches de références Gram positive (*Staphylococcus aureus*) et Gram négative (*Escherichia coli*) et (*Candida albicans*, *Saccharomyces*) pour les champignons.

Les résultats révèlent qu'il y a une légère activité marquée contre la bactérie *Escherichia coli* par rapport à l'alginate commercial avec une zone d'inhibition de 11 mm et pas d'activité avec alginate extraite

Nous remarquons aussi que l'activité antibactérienne des deux échantillons étudiés est plus prononcée sur la bactérie *Staphylococcus aureus* avec zone d'inhibition de 12 mm, suivi par des activités légèrement moins importante à absente pour l'alginate commerciale contre le champignon *Candida albicans*.

Concernant les champignons *Saccharomyces* nous remarquons une absence d'activité pour les deux extraits d'alginate.

Nous pouvons conclure à partir de ces résultats, que l'alginate extraite des algues locales est bactériostatique contre la bactérie *Staphylococcus aureus* et fongistatique contre le champignon

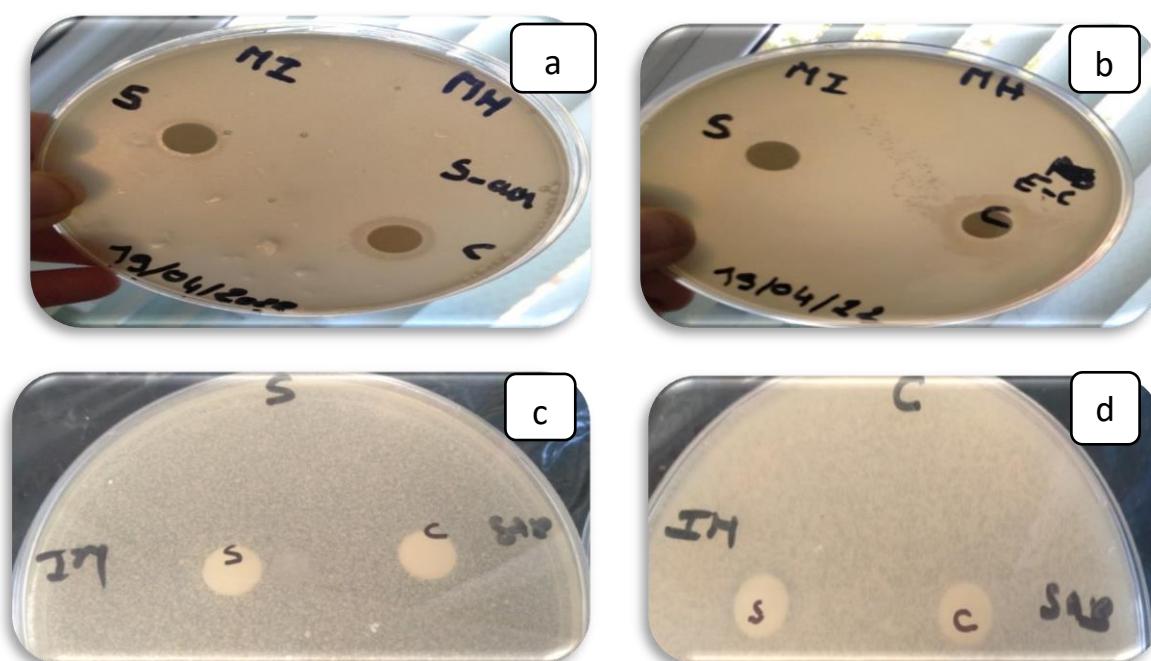


Figure 28: Zone d'inhibition de : (a) *Staphylococcus aureus*, (b) *Escherichia coli*, (c) *Candida albicans*, (d) *Saccharomyces*

2.2. Evaluation de l'activité de toxicité aigüe

Dans cette partie, seule l'alginate extraite a été étudiée.

Tableau 8: résultats de test de toxicité aigüe.

Dose d'orientation en mg/kg par un animal	1 ^{er} essai	2 ^{eme} essai
2000 mg /kg	Une mortalité	Pas de mortalité

D'après la littérature l'alginate de sodium est considéré comme non toxique pour cela, nous avons réalisé directement le test limite de 2000 mg /kg sur l'alginate dans le but de confirmer cette étude.

Après 14 jours d'observation pour le premier essai sur lot de 3 souris, nous avons remarqué la mortalité d'une souris sur les trois souris du lot.

Nous ne pouvons pas se prononcer sur la toxicité de la substance étudiée dans ces conditions, un autre test de confirmation est nécessaire. Pour cela, un 2^{ème} essai est réalisé avec la même dose de 2000 mg/kg sur un lot de 3 souris.

Après 14 jour d'observation, qu'aucune mortalité ni signe de toxicité n'est observé

A partir de là, nous pouvons justifier la mortalité du 1^{er} test par le manque ou la qualité de nourriture ou l'influence de température.

D'après les résultats et la littérature de l'étude de la toxicité aigüe d'alginate, nous pouvons conclure que la dose de 2000 mg /kg est non létale, donc cette dose pourra être utilisée comme une dose thérapeutique non toxique d'une forme pharmaceutique par voie orale.

2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

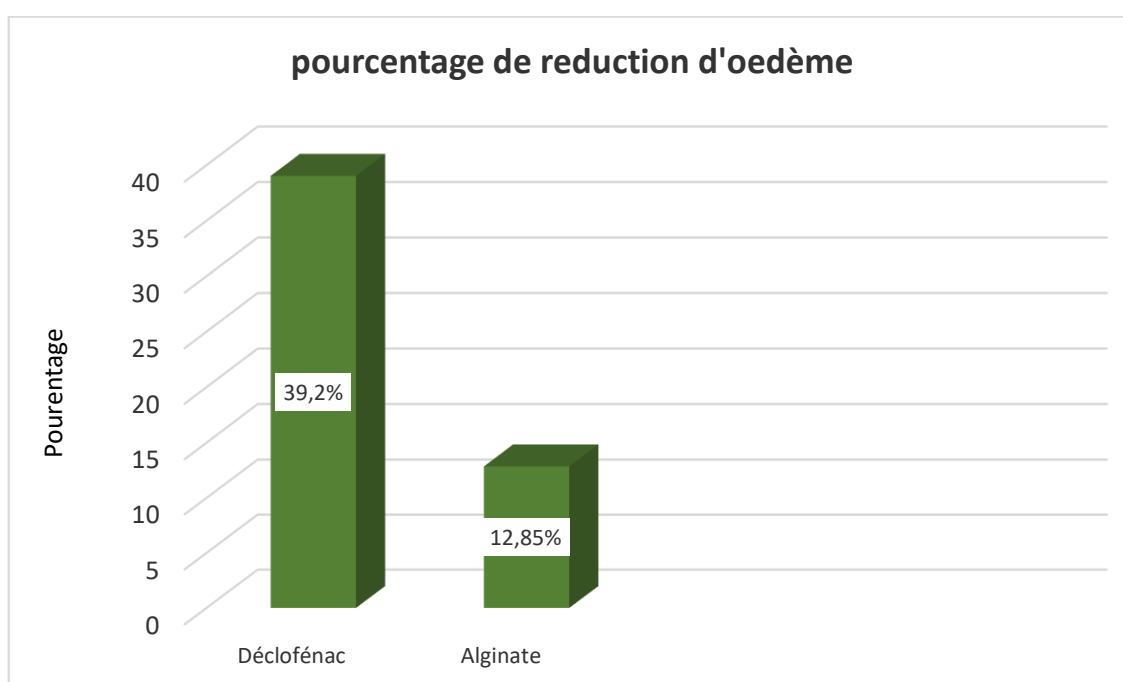
L'évaluation de l'effet anti inflammatoire d'alginate de sodium est basée sur la comparaison de la moyenne des différents poids des pattes droite (non traitées) et par rapport aux pattes gauches (traitées) des souris tests par rapport au moyennes des lots témoins et lots de référence.

Tableau 9: l'épaisseur des pattes traitées (gauche) et non traitées (droites) des souris

	Lot témoin		Lot d'alginate		Lot Référence (Diclofénac)	
	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche	Patte droite	Patte gauche	Patte droite
1	0.115	0.076	0.166	0.122	0.160	0.130
2	0.109	0.062	0.184	0.134	0.160	0.120
3	0.103	0.08	0.230	0.150	0.170	0.125
4	0.125	0.084	0.148	0.127	0.200	0.150
5	0.095	0.068	0.177	0.122	0.155	0.170
Moyenne	0.1094	0.0758	0.181	0.131	0.169	0.139

Tableau 10:pourcentage d'œdème et de réduction

Lots	MOY de patte gauche (g)	MOY Poids patte droite (g)	% d'œdème	% réduction de l'œdème
Témoin	0,1094	0,0758	43,79	0%
Référence	0,169	0,139	26 ,70%	39,02%
Essai	0,181	0,131	38,18	12,85%


Figure 29: pourcentage de réduction d'œdème.

L'administration par voie sous cutané de la solution carragennine a 0,025ml au niveau des pattes postérieures gauche des souris, a provoqué l'apparition d'un œdème

La carragénine est un agent phlogogène qui est souvent utilisé dans les modèles d'études sur les anti-inflammatoires. Son administration provoque un processus inflammatoire caractérisé par la douleur, la chaleur, la rougeur et surtout par le gonflement de la patte postérieure des souris c'est à-dire l'œdème. Ce processus inflammatoire s'est traduit par une rougeur et surtout un œdème dont l'effet maximal s'observe en 2 heures. A la fin de l'expérience c'est-à-dire au bout de 4 heures, l'œdème était plus développé dans le lot témoin

que dans les lots traités par diclofinac et par l'extrait d'alginate, où il a été observé une certaine réduction.

Le lot des souris traitées par l'alginate, a connu une certaine diminution par rapport au poids moyen du l'œdème de la patte comparant au poids moyen du lot témoin.

L'étude statistique de ce résultat est réalisée à l'aide de logiciel Statistica (version 8). Cette étude juge la réduction d'œdème comme non significative pour les deux lots, le lot traité par l'alginate et le lot traité par la référence Diclofénac. Par rapport à ça, nous recommandant en qualité de perspective de refaire l'étude afin de confirmer le résultat.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les alginates sont très disponibles dans la nature, cette étude nous a permis d'étudier les caractéristiques physicochimiques, pharmacotoxicologiques et microbiologiques d'alginate et la possibilité de les utiliser dans le domaine pharmaceutique.

La caractérisation physicochimique telle que la teneur en cendre et le taux de minéraux de l'alginate extraits et l'alginate commercial donne des résultats concordant avec la littérature.

L'évaluation de la teneur en humidité de l'alginate extrait montre une certaine différence par rapport à l'alginate commercial qui contient un taux d'humidité compatible avec la littérature. Les résultats de caractérisation par la spectroscopie FTIR ont montré que les spectres d'alginate extraits présentent une forte similarité avec l'alginate commercial.

L'étude rhéologique d'alginate et les rhéogrammes montrent que la solution d'alginate a un comportement non-Newtonien, répondant à la loi rhéologique. C'est donc un fluide rhéofluidifiant.

L'étude pharmacotoxicologique ainsi que l'étude biologique d'alginate nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne et l'activité antifongique sur différentes souches microbiennes et les résultats permettent de conclure qu'il y a une légère activité bactériostatique et fongistatique sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec l'alginate extraite.

L'évaluation de la toxicité aiguë d'alginate de sodium extrait nous a permis de réaliser un test limite pour confirmer que notre échantillon est pas toxique conformément à la littérature et considéré la dose administrée, 2000mg/kg comme une dose thérapeutique non toxique pour une forme pharmaceutique par voie orale.

Les résultats de l'étude anti-inflammatoire obtenus sont insuffisants pour juger l'activité de cette substance. Une autre étude dans des conditions plus convenables est nécessaire afin de valoriser l'activité anti-inflammatoire de l'alginate locale.

References

1. Etude de fabrication des produits Diaphag ® 80mg et la gestion des déchets médicaux dans l'industrie pharmaceutique in departement de genie des procedes 23 juin 2018, universite badji mokhtar-annaba. p. 19.
2. Mise au point et validation d'un protocole de dissolution d'un comprimé : mebeverine-saidal® comprimé enrobé à 100 mg, in département de génie des procédés industriels. 2015/2016, universite m'hamed bougara -boumerdes -.
3. H.Zhang, v., Applications in Biomedicine. Marine Drugs,. 19: p. 264.
4. P.A. Williams, G.a., ,, Handbook industrial water-soluble polymers. 2007: p. 73-97.
5. . Sun, H.T Alginate-based biomaterials for applications Materials. 2013: p. no 1285-1309.
6. J., B., Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Editions Tec & Doc, 1999.
7. Zehlila, A., "Caractérisation structurale et fonctionnelle des métabolites de l'algue verte *Ulva Rigida* au moyen d'une approche protéomique". (2017), Université Tunis El Manar. p. PP : 06. .
8. Diversité des algues et des plantes. (2006), Université Virtuelle Africaine. p. PP : 28.
9. Sylvaine Rodriguez, J.-P.V.e.a., Guide pratique de détermination des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes,. , (2014), : p. PP : 11.
10. Sandrine Garon-Lardiere, " Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales. , (2004),. p. PP : 04-06. .
11. Les algues marines : nouvelle potentialité. May23 2018.
12. Etat des Pêches Maritimes et de l'Aquaculture Mondiale. 2012. Département Pêche et Aquaculture de la FAO – Nations-Unies, Rome: p. 196.
13. Abbott, I.A., Sargassum subgenus Sargassum. Section 1. 1992. vol. 3.
14. Reviers de, B., Biologie et phylogénie des algues,. Tome 1. Editions Belin, Paris, 2002.: p. 352
15. Keeling, P.J., Burger, G.,Durnford, D. G., Lang, B. F., Lee, R. W., Pearlman, R. E., Roger, A. J., and Gray, M. and W. Gray, The tree of eucaryotes. Trends in evolution 20. 2005: p. 670-676.
16. Agardh, J.G.Ö.a.K.V.-. and A. Förhandlingar, .Species Sargassorum Australiae descriptae et disposita, 1889. . 23:1-133.
17. S. Sellimi, I.Y., H.B Ayed, H. Maalej, V. Montero, M. Rinaudo, M. Dahia, T. and M.H. Mechichi, M. Nasri, International Journal of Biological Macromolecules. 2015,. 1358- 6.: p. 72.
18. D. Bosscher , M.V.C.-B., H. Deelstra. Nutrition, 2001,: p. 614-618.
19. P. Agulhon, M.R., J.P. Habas, F. Quignard., Carbohydrate Polymers. 2014,. 112: p. 525-531.
20. Stanford, E.C.C.S., US Patent, 1886. US349,760.
21. Nelson, W.L.N., L.H. Cretcher, J. Am. Chem. Soc, 1930. 2130-2134.: p. 52.
22. JOUANNEAU, D., les phycocolloides, 2007.
23. L.Payet , F.p., P.Agenly ,J.colinart ;L,Grpssiord, Rhéologie caractirisation rhéologique de la gélification de l'alginate et chitosane. 2002. 2: p. 46-51.
24. A.hang, composition and proprieties of alginate 1964.

25. ROCHER, V., synthèse et caractérisation des billes d'alginate magnétique pour élimination de polluant organique. 2008, MARIE CURIE.
26. R., P., Ces algues qui nous entourent: conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture. Editions IFREMER, 1997.
27. Bruneton J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales., Paris, 1999., 3ème édition: p. 45- 52.
28. (, A.H.e.O.S., Acta Chemica Scandinavica. 1221, (1965).
29. B., B., Les algues; utilisation des algues et de leurs dérivés dans l'industrie pharmaceutique et en thérapeutique, in Thèse de Docteur en Pharmacie., Rennes, 1982.
30. C., O., Les algues: alimentation et thérapeutique, in Thèse de Docteur en Pharmacie, Rennes. 1983.
31. O. Smidsrod, A.H., and B. Larsen, «The influence of pH on the rate hydrolysis of acidic polysaccharides», . Acta Chem. , 1996.
32. P. Gacesa, R.C.C., and P. Kille., «Bacterial alginates, Pseudomonas aeruginosa infection»,. karger, Basel, 1989 p. 67.
33. M.H.C.J. Minghou, W.Y., X. Zuhong and G. Yucai, «Studies on the M/G ratios in alginate» . Hydrobiology, 1984. 116, N°7: p. . 554-556.
34. Chatain., M., Comportements physique et thermomécanique des plastiques. Tech. Ing. A3110.
35. P. Coussot, J.L.C., Comprendre la rhéologie de la circulation du sang à la prise du béton. Edition EDP Sciences, 2001.
36. G. Carturan, R.C., L. Tognana, et R. Dal Monte., Gas- phase silicon alkoxide reactivity vs. Na-alginate droplets for conjugation of alginate and solgel technologies. Sol-Gel Sci. Technol., 2006. 3: 77.
37. Criblage phytochimique ,Etude toxicologique et Valorisation pharmacologique de Melissa officinalis et de Mentha rotundifolia (lamiacees), in science du meducaments 2015/2016, univesite MOHAMMED V.
38. al, L.e., La toxicite et la detoxication des polluants. 2007. p. 334.
39. collaborateurs, W.e.s., 1962 (Dieng et al. 2013). .
40. r. ben abdallah1, d. frikha2 , s. maalej2 et s. sassi3 and e.-m.d.l.a.c. rihab_b86@hotmail.com, evaluation in vitro de l'activite antibacterienne et antifongique de quatre especes algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae.
41. entourent, R.P.C.a.q.n., « conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture ». 2007: p. 90-124.
42. B.H.A. Rehm, S.V., Bacterial alginates: biosynthesis and applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1977. 48:: p. 281-288.
43. I. BALIA Imene et S.HIDECHÉ, Polysaccharides des algues marines (phycocolloïdes) : extraction, purification et caractérisation, Master Génie pharmaceutique, Centre universitaire Morsli Abdellah De Tipaza, 2021.
44. pharmacopée européenne. 2009. p. 4587.
45. européenne, p., 2009: p. 4587.
46. Z. Belattmania 1, R.Z., A. Reani 1, S. Elatouani 1, E.M. Sabbar 2, A. Mourtadi 3,R. El Moznine 3, O. Cherkaoui 5, F. Bentiss 4, B. Sabour 1* Spectroscopic and rheological characterization of sodium alginate extracted from three Phaeophyceean seaweeds (Dictyopteris polypodioides, Dilophus ligulatus and Halopteris scoparia) from El Jadida shoreline – Morocco (Caractérisation spectroscopique et rhéologique des alginates de sodium extraits de trois algues marines Phaeophyceae

(*Dictyopteris polypodioides*, *Dilophus ligulatus* et *Halopteris scoparia*) de la côte d'El Jadida – Maroc) Received 8 Oct 2014, Revised 7 Nov 2014, Accepted 17 Dec 2014

47. R. Zrid 1 , F.B., 3 , R. Attoumane Ben Ali 1 , Z. Belattmania 1 , A. Zarrouk 4, S.Elatouani 1, A. Eddaoui 1, A. Reani 1, B. Sabour 1, Potential uses of the brown seaweed *Cystoseira humilis* biomass: 1- Sodium alginate yield, FT-IR, 1H NMR and rheological analyses. Received 21 Dec 2015, Revised 07 Jan 2016, Accepted 22 Jan 2016.
48. évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l. . reçu le 21/05/2017, révisé le 21/06/2017, accepté et mis en ligne le 30/06/2017: p. 366.
49. COLOT, Notions technique de pharmacologie générale édition Masson. Procédure de gestion des documents et des données «PR.C.AQ.001». .M(1972).
50. PHARMACOPÉE EUROPÉENNE. 2009.
51. Essai d'immobilisation des enzymes pectinolytiques par alginate de sodium extraites des algues brunes (*Cystoseira caespitosa*) de la region de Cap Djenat, in departement de technologie alimentaire 2017, Universite M'hamed bougara boumerdes. p. 44.
52. sinha, 2010).
53. Bettmania and Potential uses of the brown seaweed *Cystoseira humilis* biomass : 1- Sodium alginate yield, FT-IR, 1H NMR and rheological analyses. 2014

ANNEXE



Figure 1 : la solubilité d'alginate dans l'eau distillé



Figure 2: formation de la mousse gélatineuse avec l'acide sulfurique

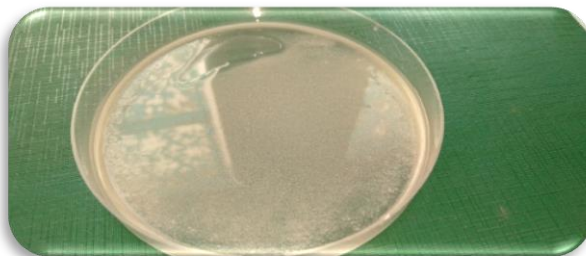


Figure 3:Test de l'insolubilité d'alginate dans l'éthanol à 96%

Les courbes d'Analyse d'infra rouge

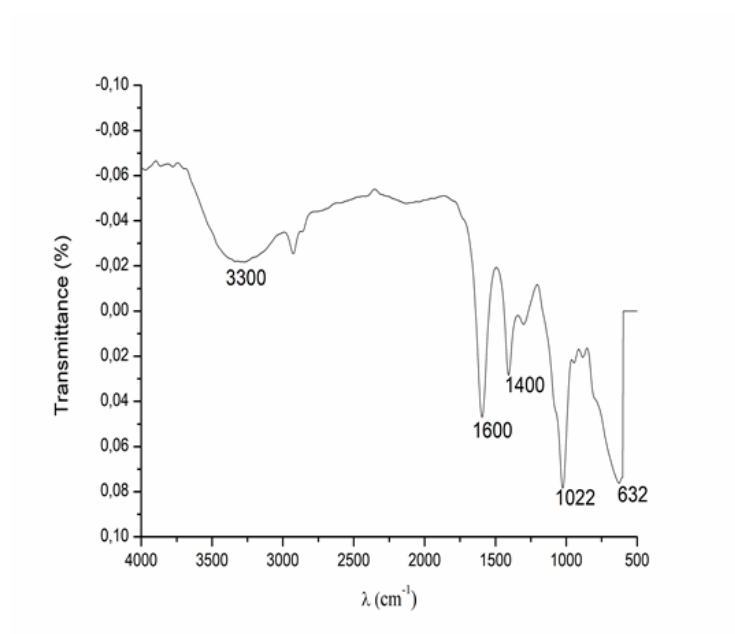


Figure4 : Alginate commerciale

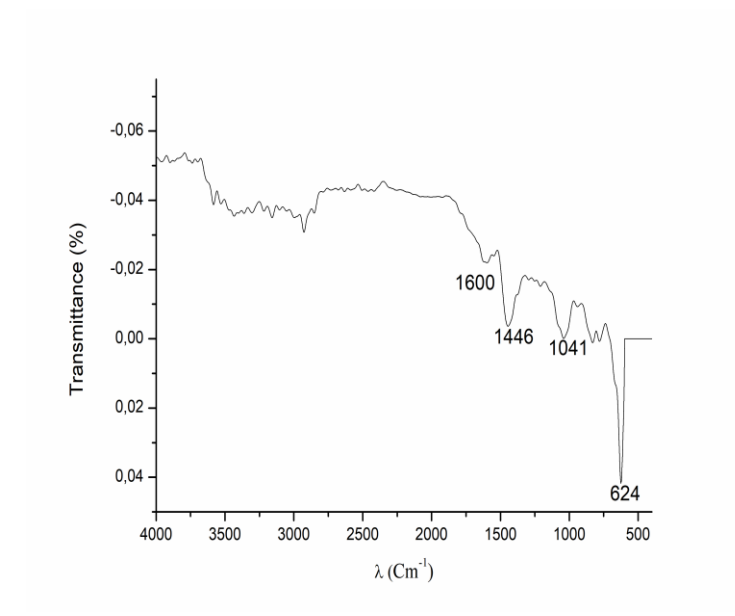
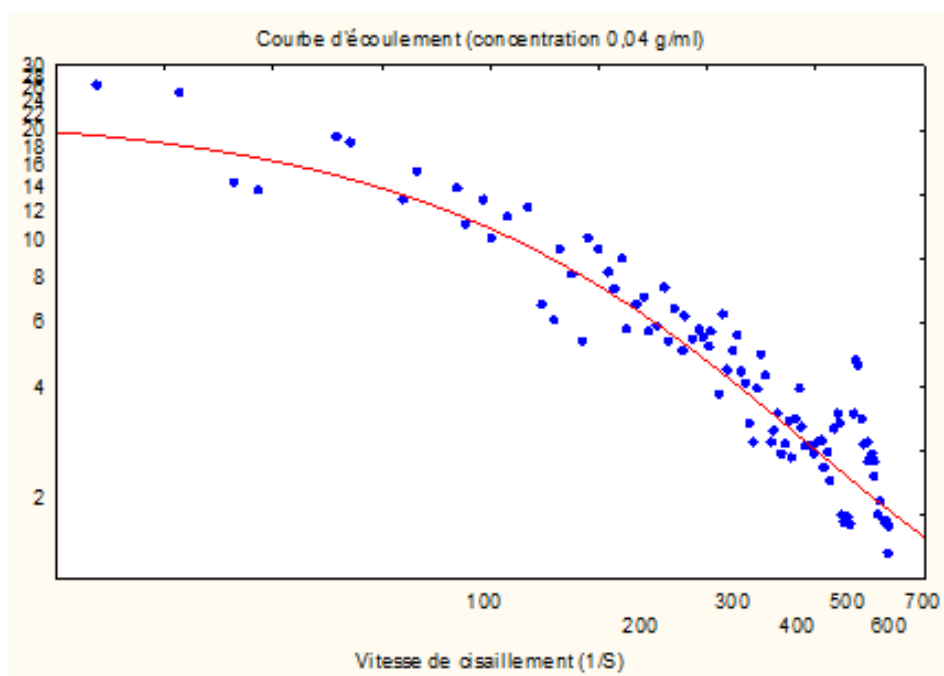
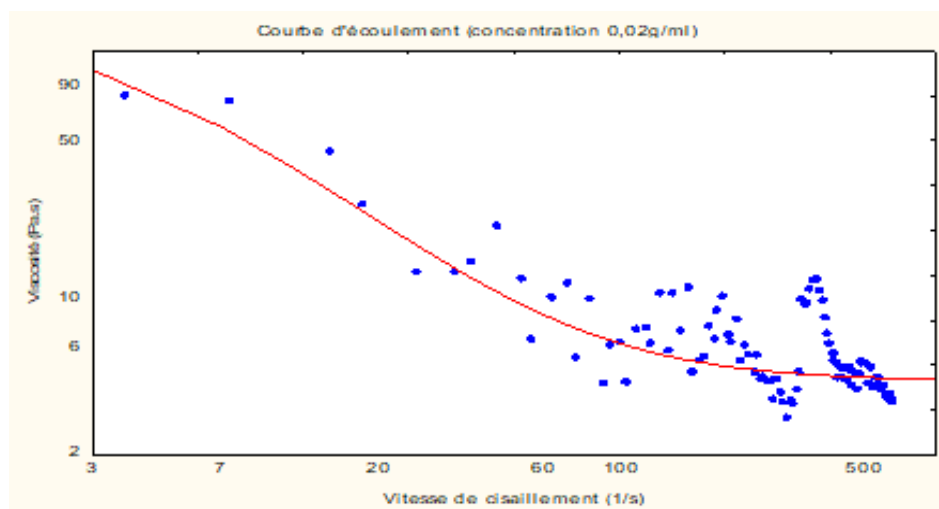
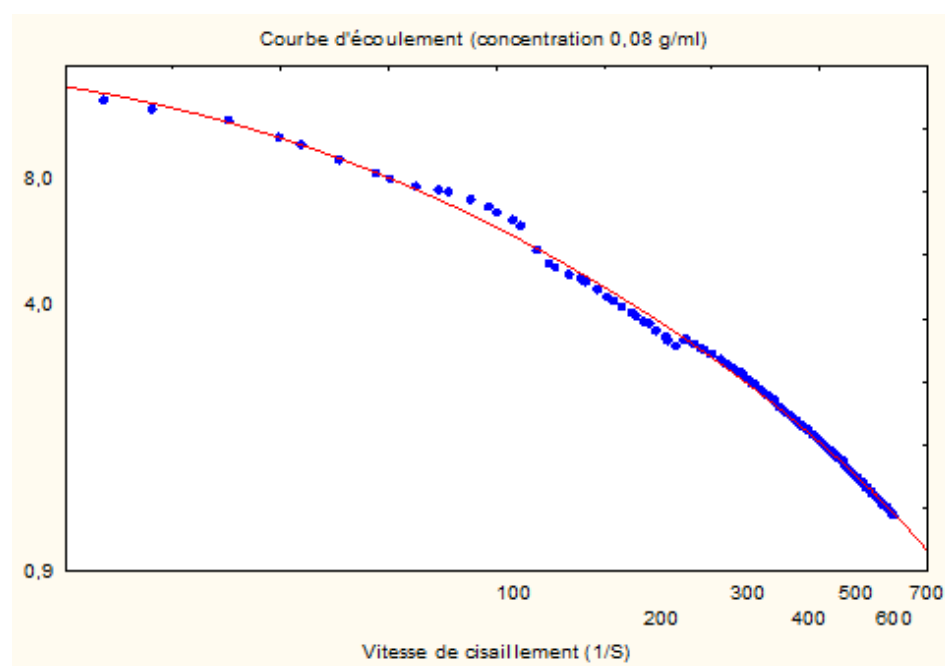
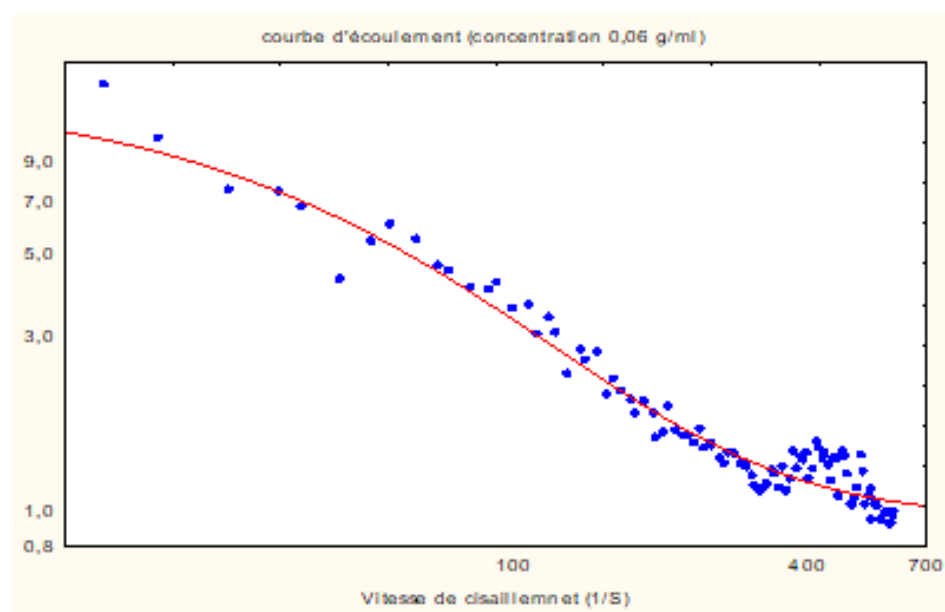


Figure5 : Alginate extraite

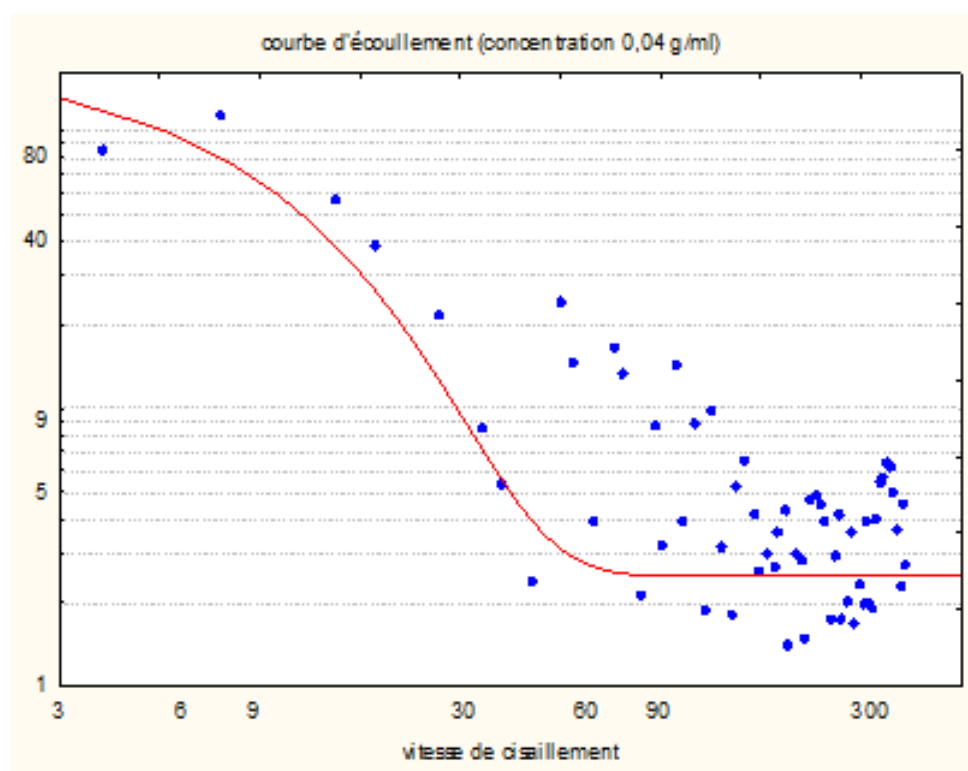
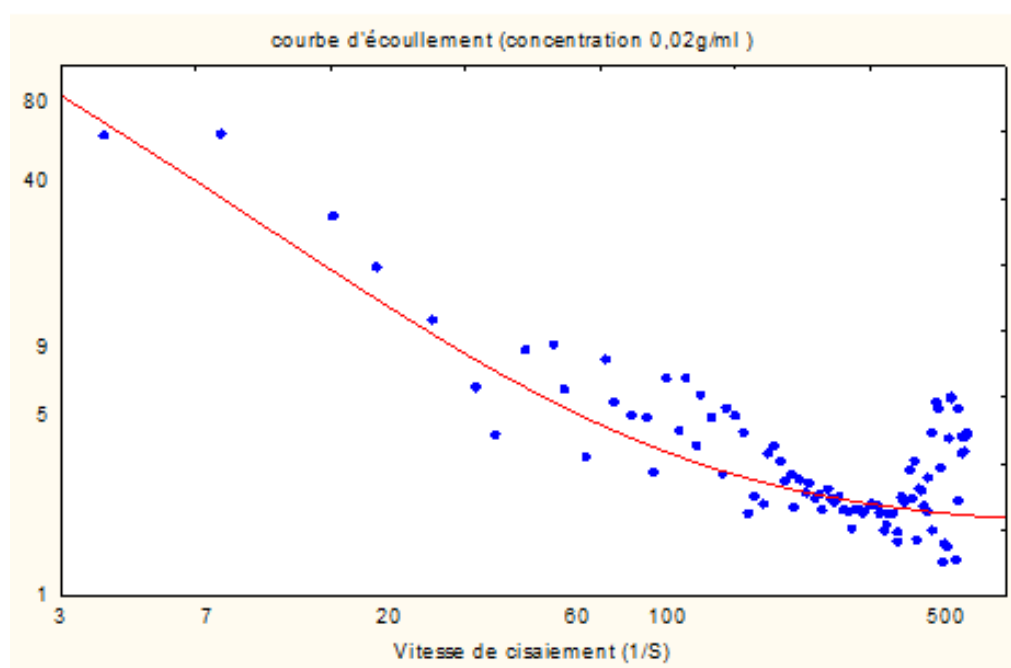
Les courbes d'écoulements

Pour l'alginate extrait

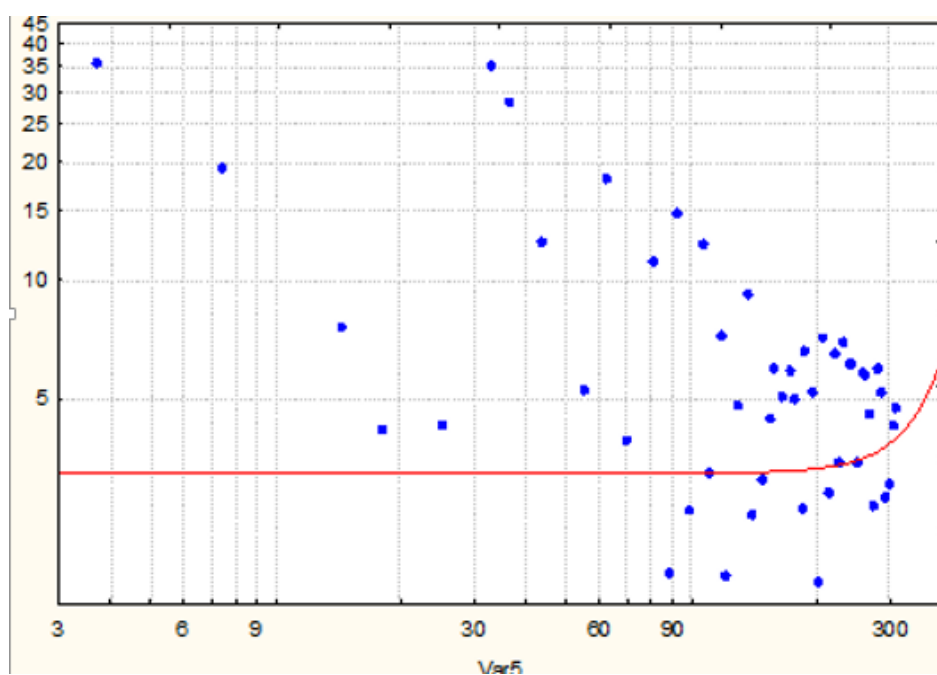




Alginate commercial



Courbe d'écoulements (concentration 0,06g /ml)



courbe d'écoulement (concentration 0,08 g/ml)

