

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis -Mostaganem- Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

Mémoire de fin d'études

**EN VUE DE L'OBTENTION DU**

**DIPLÔME DE MASTER ACADÉMIQUE**

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Présenté par : Chamouma Nesrine et Benyousfi Nawal

**Thème**

**Évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de  
l'extrait de *Chlorella vulgaris*.**

Soutenu le 21/06/2026

Devant le jury composé de :

|            |                         |     |               |
|------------|-------------------------|-----|---------------|
| Présidente | Dr. ZERROUKI Kheira     | MCA | U. Mostaganem |
| Encadrante | Dr. SISBANE Ismahène    | MCB | U. Mostaganem |
| Examineur  | Dr. BENGUENDOZ Abdenour | MCA | U. Mostaganem |

*Année universitaire : 2025/2026*

# ***Remerciements***

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience nécessaires pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre directrice de thèse, Madame **Dr. SISBANE. I**, pour avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour ses précieux conseils, sa disponibilité constante et la confiance qu'elle nous a accordée tout au long de notre parcours de recherche.

Nous adressons nos sincères remerciements au **Dr. ZERROUKI K.** et au **Dr. BENGUENDOZ A.**, qui nous font l'honneur de siéger au sein du jury et d'apporter leur expertise à l'évaluation de ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également au **Dr ARABI A.**, **Dr. BENOTMANE. K.**, et **Dr TAHALAITI A.**, pour leur soutien scientifique, leur précieuse assistance, leurs orientations ainsi que le temps qu'ils nous ont généreusement consacré afin de mener à bien ce projet.

Enfin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à l'ensemble des enseignants, techniciens de laboratoire et toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué au bon déroulement de ce travail.

# Dédicaces

**Nesrine....**

*Tout d'abord, Dieu merci qui m'a aidée à réaliser ce modeste travail.*

*Avec tous mes sentiments de respect, et tous mes reconnaissances, je dédie ma remise de diplôme et ma joie à mon support qui était toujours à mes côtés pour son soutien et ses encouragements.*

*A mon prince papa « LAID »*

*A mon paradis, à la prunelle de mes yeux à la source de ma joie et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui a allumé mon chemin, ma moitié,*

*A Maman « ZOULIKHA ».*

*A mes sœurs : Souad, Wafa, Malak Aya, Ines, Alae Norhan*

*A mon frère unique : Mohamed*

*A toute la famille Chamouma et Hamida*

*Ma chère amie : Benyousfi Nawal*

*Sans oublier mon binôme Nawal pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A tous mes collègues de promotion de 2<sup>ème</sup> année master Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire*

*Atout ce qui ont participé à ma réussite et à tous ceux qui m'aiment.*

# Dédicaces

## ***Nawal....***

*À personnes les plus chères à mon cœur, à ma mère et ma grand-mère adorées, qui ont été mon soutien, mes prières et ma force, et qui m'ont accompagnée à chaque étape de mon parcours jusqu'à aujourd'hui.*

*À mes deux chères tantes pour leur soutien, leurs encouragements et leur aide tout au long des différentes étapes de ma vie.*

*Et à mon chère amie Nesrine, qui a partagé avec moi les moments difficiles comme les moments de joie, et qui a été le meilleur compagnon et le plus grand soutien durant ce cheminement.*

## Résumé

Ce travail a pour objectif d'évaluer les activités antioxydante et antimicrobienne de *Chlorella vulgaris*, microalgue reconnue pour ses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques. L'étude porte principalement sur l'extrait obtenu par extraction assistée par ultrasons. Cette technique permet de rompre la paroi cellulaire de l'algue afin d'accroître le rendement en composés bioactifs.

Les résultats ont montré un rendement d'extraction de 11,7 %. L'analyse phytochimique de l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* a révélé la présence de plusieurs composés phénoliques, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les saponines, avec absence des sucres réducteurs. L'analyse quantitative a mis en évidence des teneurs de 6,69 mg EAG/g d'extrait sec pour les polyphénols totaux, 26,33 mg EQ/g ES pour les flavonoïdes et 24,90 mg EC/g ES pour les tanins condensés. Ces composés pourraient être à l'origine des activités biologiques observées. L'activité antioxydante, évaluée par la méthode DPPH, indiquant une faible activité antioxydante avec une  $CI_{50}$  estimée à 300,50  $\mu$ g/ml.

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de quatre souches pathogènes, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats n'ont montré aucune activité inhibitrice, aucune des souches testées, qu'elles soient Gram positives ou Gram négatives, n'ayant présenté de sensibilité à l'extrait.

Il ressort de ces résultats que, dans les conditions expérimentales de notre étude, *Chlorella vulgaris* ne présente pas d'activité significative en tant que source d'agents antibactériens et antioxydants. Cette absence d'efficacité pourrait être liée à la nature et à l'origine de la matière première, au solvant utilisé ainsi qu'à la méthode d'extraction, qui influencent la composition en composés bioactifs.

**Mots-clés :** *Chlorella vulgaris*, extraction par ultrasons, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antibactérienne.

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاطات المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات في *Chlorella vulgaris*، وهي طحلب دقيق معروف بخصائصه الغذائية والعلاجية. تركز الدراسة بشكل أساسي على المستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية. تسمح هذه التقنية بكسر جدار الخلية في الطحلب من أجل زيادة مردود المركبات النشطة بيولوجياً.

أظهرت النتائج مردود الاستخلاص بنسبة 11,7 %. وكشف التحليل الكيميائي النباتي للمستخلص الإيثانولي من *Chlorella vulgaris* عن وجود عدة مركبات فينولية، لا سيما البوليفينولات والفلافونويدات والتانينات والصابونينات، مع غياب السكريات المختزلة. وأظهر التحليل الكمي محتويات تبلغ 6.69 ملغ EAG/غ من المستخلص الجاف للبوليفينولات الكلية، و 26.33 ملغ EQ/غ ES للفلافونويدات، و 24.90 ملغ EC/غ ES للتانينات المكثفة. وقد تكون هذه المركبات هي السبب وراء الأنشطة البيولوجية التي لوحظت. أشار النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم تقييمه بطريقة DPPH، إلى نشاط مضاد للأكسدة ضعيف مع  $IC_{50}$  مقدرة بـ 300,50 ميكروغرام/مل.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بطريقة الانتشار على القرص مقابل أربع سلالات ممرضة، وهي *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa*. ولم تظهر النتائج أي نشاط مثبط، حيث لم تظهر أي من السلالات المختبرة، سواء كانت موجبة الجرام أو سالبة الجرام، حساسية تجاه المستخلص.

وتشير هذه النتائج إلى أنه، في الظروف التجريبية لدراستنا، لا تظهر *Chlorella vulgaris* أي نشاط ذي دلالة كمصدر للعوامل المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة. وقد يكون هذا الافتقار إلى الفعالية مرتبطاً بطبيعة المادة الخام ومصدرها، ونوع المذيب المستخدم، وكذلك بطريقة الاستخلاص، التي تؤثر على تكوين المركبات النشطة بيولوجياً.

**الكلمات المفتاحية:** *Chlorella vulgaris* ، الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا .

## Abstract

This study aims to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of *Chlorella vulgaris*, a microalga recognized for its nutritional and therapeutic properties. The study focuses primarily on the extract obtained through ultrasound-assisted extraction, a technique that disrupts the algal cell wall in order to increase the yield of bioactive compounds.

The results showed an extraction yield of 11.7%. Phytochemical analysis of the ethanolic extract of *Chlorella vulgaris* revealed the presence of several phenolic compounds, including polyphenols, flavonoids, tannins, and saponins, with an absence of reducing sugars.

Quantitative analysis yielded total polyphenol content of 6.69 mg GAE/g DW, flavonoids at 26.33 mg QE/g DW, and condensed tannins at 24.90 mg CE/g DW. These compounds may be responsible for the observed biological activities. Antioxidant activity, assessed by the DPPH method, indicated weak antioxidant potential, with an IC<sub>50</sub> value estimated at 300.50 µg/ml.

Antibacterial activity was evaluated using the disk diffusion method against four pathogenic strains, namely *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The results revealed no inhibitory activity, as none of the tested strains, whether Gram-positive or Gram-negative, exhibited sensitivity to the extract.

These findings indicate that, under the experimental conditions of the present study, *Chlorella vulgaris* does not demonstrate significant activity as a source of antibacterial or antioxidant agents. This lack of efficacy may be attributed to the nature and origin of the raw material, the solvent employed, and the extraction method, all of which influence the composition and concentration of bioactive compounds.

**Keywords:** *Chlorella vulgaris*, ultrasound-assisted extraction, phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.

## Liste des abréviations

**EPS** : Substances Polymériques Extracellulaires.

**PBR** : Photobioréacteurs.

**AGPI** : Acides Gras Polyinsaturés.

**SD** : Serbig-Dowley.

**SGH** : Système Générale Harmonisé.

**GRAS** : Généralement Reconnu Comme Sûr.

**FRAP** : Pouvoir Antioxydant Réducteur du Fer.

**DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

**SOD** : Superoxyde Dismutase.

**CAT** : Catalase.

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.

**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide.

**EUA** : Extraction Assistée par Ultrasons.

**TPT** : Teneur en Poluphénols Tataux.

**TFT** : Teneur en Flavonoïdes Totaux.

**GN** : Gélose Nutritive.

**MH** : Gélose Mueller Hinton.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

**DES** : Deep Eutectic Solvents (Solvants Eutectiques Profonds).

**IC<sub>50</sub>** : Concentration Inhibitrice médiane.

**COVS** : Solvants Organiques Conventionnels.

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Phosphotungstique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**HCl** : Acide Chlorhydrique.

**FeCl<sub>3</sub>** : Trichlorure de Fer.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium.

## Liste des Tableaux

| N° du tableau     | Titre                                                                                                                                | Page |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Tableau 01</b> | Composition en acides aminés d' <i>A. platensis</i> et de <i>C. vulgaris</i>                                                         | 13   |
| <b>Tableau 02</b> | Teneur en acide gras de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                                    | 14   |
| <b>Tableau 03</b> | Teneur en vitamines de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                                     | 15   |
| <b>Tableau 04</b> | Teneur en minéraux de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                                      | 16   |
| <b>Tableau 05</b> | Teneur en pigments de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                                      | 16   |
| <b>Tableau 06</b> | Composition nutritionnelle moyenne de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                      | 17   |
| <b>Tableau 07</b> | Teneur en caroténoïdes, teneur en composés phénoliques et activité antioxydante dans les extraits éthanol/eau de biomasse microalgue | 25   |
| <b>Tableau 08</b> | Analyse qualitative des composés phytochimiques de différents Extraits de <i>Chlorella vulgaris</i>                                  | 26   |
| <b>Tableau 09</b> | Mécanisme d'action de certains agents antimicrobiens                                                                                 | 27   |
| <b>Tableau 10</b> | Les souches bactériennes testées                                                                                                     | 32   |
| <b>Tableau 11</b> | Rendement de l'extrait de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                                                  | 43   |
| <b>Tableau 12</b> | Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait de <i>Chlorella vulgaris</i> .                                             | 45   |
| <b>Tableau 13</b> | Teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins de l'extrait hydroéthanoliques de <i>Chlorella Vulgaris</i>                   | 46   |
| <b>Tableau 14</b> | Activité antioxydante de l'extrait de <i>Chlorella Vulgaris</i> .                                                                    | 48   |
| <b>Tableau 15</b> | Résultats de l'activité antibactérienne du l'extrait hydroéthanolique de <i>chlorella vulgaris</i>                                   | 50   |
| <b>Tableau 16</b> | Sensibilité des bactéries pathogènes contre l'extrait éthanolique du <i>Chorella Vulgaris</i>                                        | 50   |

## Liste des Figures

| N° de la figure  | Titre                                                                                          | Page |
|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Figure 01</b> | Diversité morphologique des microalgues                                                        | 06   |
| <b>Figure 02</b> | Répartition géographique de <i>Chlorella vulgaris</i> en Algérie                               | 07   |
| <b>Figure 03</b> | Vue microscopique de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                 | 08   |
| <b>Figure 04</b> | Schéma de l'ultrastructure de <i>Chlorella vulgaris</i>                                        | 09   |
| <b>Figure 05</b> | Bassins naturels                                                                               | 09   |
| <b>Figure 06</b> | Bassins artificiels circulaires                                                                | 10   |
| <b>Figure 07</b> | Bassin de type <i>raceway</i>                                                                  | 10   |
| <b>Figure 08</b> | Photobioréacteurs tubulaires de l'université de Wageningen Algae Parc                          | 11   |
| <b>Figure 09</b> | Les étapes d'extraction par macération                                                         | 19   |
| <b>Figure 10</b> | L'extraction par micro-ondes                                                                   | 20   |
| <b>Figure 11</b> | Les algues vertes utilisées en cosmétique                                                      | 22   |
| <b>Figure 12</b> | La poudre de <i>Chlorella vulgaris</i>                                                         | 33   |
| <b>Figure 13</b> | Les étapes d'extraction par la technique ultrasons                                             | 34   |
| <b>Figure 14</b> | Les étapes de la méthode de diffusion sur disques                                              | 41   |
| <b>Figure 15</b> | Résultats du criblage phytochimique de l'extrait hydroéthanolique de <i>Chlorella vulgaris</i> | 44   |
| <b>Figure 16</b> | La courbe d'étalonnage de taux d'inhibition de l'acide ascorbique                              | 49   |
| <b>Figure 17</b> | La courbe d'étalonnage de l'extrait <i>Chlorella Vulgaris</i>                                  | 49   |
| <b>Figure 18</b> | La zone d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence de l'antibiotique.            | 51   |
| <b>Figure 19</b> | La zone d'inhibition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en présence de l'antibiotique.           | 52   |
| <b>Figure 20</b> | La zone d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> en présence de l'antibiotique.                 | 52   |
| <b>Figure 21</b> | La zone d'inhibition de <i>Bacillus subtilis</i> en présence de l'antibiotique.                | 53   |

# Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

## Partie 1. Etude bibliographique

### Chapitre 1 : *Chlorella vulgaris* et son potentiel bioactif.

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1. Définition des microalgues .....                              | 4  |
| 1.2. Importance biologique et économique .....                     | 4  |
| 1.3. <i>Chlorella vulgaris</i> .....                               | 5  |
| 1.3.1. Définition et Origine .....                                 | 5  |
| 1.3.2. Distribution géographique et habitat .....                  | 6  |
| 1.3.3. Classification taxonomique.....                             | 8  |
| 1.4. Conditions de culture et de croissance de la microalgue ..... | 9  |
| 1.4.1. Systèmes ouverts .....                                      | 9  |
| 1.4.2. Systèmes fermés (PBR).....                                  | 11 |
| 1.4.3. Les conditions de culture .....                             | 11 |
| 1.5. Composition biochimique .....                                 | 13 |
| 1.5.1. Protéines .....                                             | 13 |
| 1.5.2. Lipides .....                                               | 14 |
| 1.5.3. Glucides.....                                               | 14 |
| 1.5.4. Vitamines et minéraux .....                                 | 15 |
| 1.5.5. Pigments (chlorophylles, caroténoïdes) .....                | 16 |
| 1.5.6. Composés bioactifs .....                                    | 16 |
| 1.6. Valeur nutritionnelle .....                                   | 17 |
| 1.7. Techniques d'extraction des composés bioactifs .....          | 18 |
| 1.7.1. Macération .....                                            | 18 |
| 1.7.2. Ultrasons.....                                              | 19 |
| 1.7.3. Micro-ondes .....                                           | 19 |
| 1.8. Toxicité .....                                                | 20 |
| 1.9. Domaines d'application .....                                  | 21 |
| 1.9.1. Domaine alimentaire .....                                   | 21 |
| 1.9.2. Domaine médicinale et pharmaceutique.....                   | 21 |
| 1.9.3. Domaine cosmétique .....                                    | 21 |

### Chapitre 2. Activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait de *Chlorella vulgaris*.

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.1. Activité antioxydante .....                                             | 24 |
| 2.1.1. Mécanismes d'action .....                                             | 24 |
| 2.1.2. Principaux composants antioxydants de <i>chlorella vulgaris</i> ..... | 25 |
| 2.1.3. Rôle des antioxydants dans la conservation des aliments.....          | 26 |
| 2.2. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante .....                  | 26 |
| 2.2.1. Méthode DPPH .....                                                    | 26 |
| 2.2.2. Méthode FRAP .....                                                    | 27 |

|                                                                                            |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.3. Activité antibactérienne .....                                                        | 27 |
| 2.3.1. Mécanismes d'action antibactérienne des composés de <i>Chlorella vulgaris</i> ..... | 27 |
| 2.3.2. Composés responsables de l'activité antibactérienne.....                            | 28 |
| 2.3.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....                            | 28 |
| 2.3.3.1. Méthodes de diffusion sur disque.....                                             | 28 |
| 2.3.3.2. Méthodes de dilution en milieu liquide. ....                                      | 29 |
| 2.5. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) .....                    | 29 |
| 2.6. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) .....                    | 29 |

## **Partie 2. Etude expérimentale**

### **Matériel et Méthodes**

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Objectif de l'étude .....                                                  | 31 |
| 2. Matériel biologique.....                                                   | 31 |
| 2.1. Matériel végétal .....                                                   | 31 |
| 2.2. Microorganismes utilisés .....                                           | 32 |
| 3. L'extraction de <i>Chlorella vulgaris</i> par la technique ultrasons ..... | 33 |
| 3.1. Détermination du rendement d'extraction .....                            | 34 |
| 4. Techniques analytiques .....                                               | 34 |
| 4.1. Criblage phytochimique des composés bioactifs .....                      | 34 |
| 4.2. Analyse quantitative.....                                                | 35 |
| 4.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....                                    | 35 |
| 4.2.2. Dosage des flavonoïdes .....                                           | 36 |
| 4.2.3. Dosage des tanins.....                                                 | 37 |
| 4.2.4. Détermination de l'activité antioxydante .....                         | 38 |
| 4.2.4.1. Activité antiradicalaire DPPH.....                                   | 38 |
| 4.3. Détermination de l'activité antibactérienne .....                        | 39 |
| 4.3.1. Méthode de diffusion sur disque.....                                   | 40 |

### **Résultats et discussion**

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Rendement de l'extrait brut .....                                         | 43 |
| 2. Criblage phytochimique des composés bioactifs (Analyse qualitative) ..... | 43 |
| 3. Analyse quantitative .....                                                | 46 |
| 3.1. Teneur en polyphénols totaux .....                                      | 46 |
| 3.2. Teneur en flavonoïdes .....                                             | 47 |
| 3.3. Teneur en tanins .....                                                  | 47 |
| 4. Activité antioxydante .....                                               | 48 |
| 4.1. Activité antiradicalaire DPPH .....                                     | 48 |
| 5. Activité antibactérienne .....                                            | 50 |
| Conclusion .....                                                             | 54 |
| Références bibliographiques .....                                            | 58 |
| Annexe                                                                       |    |

# **Introduction**

## Introduction

Les microalgues du genre *Chlorella vulgaris* figurent parmi les organismes photosynthétiques les plus anciens de la planète, leur apparition remontant à l'ère précambrienne il y a plus de 2,5 milliards d'années. Grâce à leur richesse nutritionnelle exceptionnelle, notamment en protéines, caroténoïdes, vitamines, minéraux et autres composés bioactifs, les espèces de *Chlorella*, en particulier *Chlorella vulgaris*, suscitent un intérêt croissant comme source alimentaire durable et complément nutritionnel pour l'homme. Plusieurs études récentes soulignent leur potentiel dans les domaines de l'alimentation fonctionnelle, de la nutraceutique et de la santé humaine en raison de leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes (Bito et *al.*, 2020 ; Mendes et *al.*, 2024 ; Wang et *al.*, 2024). Aujourd'hui, *Chlorella vulgaris* est largement cultivée et commercialisée comme aliment santé dans de nombreux pays, notamment au Japon, en Chine, en Allemagne et dans plusieurs régions d'Asie, où elle est intégrée dans divers produits alimentaires et compléments nutritionnels (Brennan et Wende, 2010).

L'extraction de composés bioactifs à partir de sources renouvelables suscite un intérêt considérable en raison de la demande croissante de méthodes durables et respectueuses de l'environnement. Parmi la diversité des espèces d'algues, la biomasse de *Chlorella vulgaris* se distingue comme une excellente source de molécules bioactives aux applications variées dans de nombreux secteurs industriels. *Chlorella vulgaris* est une microalgue possède une composition biochimique riche, notamment en polyphénols, en flavonoïdes et en antioxydants, ce qui leur confère de nombreux bienfaits pour la santé (Fassi Fihri et *al.*, 2024).

L'algue *Chlorella vulgaris* est utilisée dans l'industrie alimentaire comme ingrédient dans les smoothies et les compléments alimentaires, améliorant ainsi la valeur nutritionnelle de divers produits. Elle offre plusieurs bienfaits pour la santé, notamment une activité antioxydante, un soutien du système immunitaire et des propriétés détoxifiantes, contribuant tous à une meilleure santé globale. Son activité antibactérienne varie également selon la souche, les conditions de culture et les coûts de production (Wang et *al.*, 2024).

Cette étude contribue à l'avancement des connaissances et à la compréhension scientifique de l'algue *Chlorella vulgaris*. Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait de *Chlorella vulgaris* à travers différentes analyses biologiques et biochimiques.

L'étude se divise en deux parties principales. La première, à caractère théorique, comprend deux chapitres : le premier propose une présentation générale de l'algue *Chlorella vulgaris*, tandis que le second s'intéresse à ses propriétés biologiques, en particulier ses propriétés antioxydantes et antibactériennes.

La seconde partie, dédiée à l'étude expérimentale, décrit le matériel et les techniques de laboratoire utilisés et explique les protocoles expérimentaux adoptés. Enfin, elle présente les résultats obtenus, suivis de leur interprétation, ainsi que d'une analyse et d'une conclusion.

# **Chapitre 1**

## ***Chlorella vulgaris* et son potentiel bioactif**

### **1.1. Définition des microalgues**

Les microalgues sont des micro-organismes unicellulaires, majoritairement eucaryotes, présents dans les milieux aquatiques aussi bien dulcicoles que marins. Elles présentent généralement des morphologies ovales ou sphériques. Organismes photosynthétiques, elles utilisent l'énergie lumineuse et l'eau afin de synthétiser de la biomasse tout en produisant de l'oxygène. À ce titre, elles jouent un rôle fondamental dans le maintien de l'équilibre atmosphérique grâce à la fixation du dioxyde de carbone et à la libération d'oxygène (Suresh et Lee, 2024).

Les microalgues renferment de la chlorophylle ainsi qu'un large éventail de composés nutritifs essentiels. Elles se caractérisent par une importante diversité taxonomique et morphologique, regroupant aussi bien des procaryotes, tels que les cyanobactéries (algues bleu-vert), que des eucaryotes, notamment les algues vertes, rouges et brunes. Leur taille peut varier de moins d'un micromètre à plusieurs centaines de micromètres.

Ces organismes se développent dans les milieux aquatiques soit en suspension dans la colonne d'eau sous forme de plancton, soit fixés à différents substrats, constituant ainsi les communautés benthiques (roches, sable, végétaux ou organismes animaux). L'adhésion au substrat est assurée par la sécrétion de matière organique et de substances polymériques extracellulaires (EPS), principalement constituées de polysaccharides, de protéines et de lipides (Benamor, 2015).

### **1.2. Importance biologique et économique**

Les microalgues synthétisent une grande diversité de métabolites secondaires bioactifs qui leur permettent de s'adapter et de survivre dans des conditions environnementales parfois extrêmes. Ces composés présentent un intérêt considérable en raison de leurs propriétés biologiques et nutritionnelles, notamment leurs activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antivirales et anticoagulantes. Les microalgues constituent ainsi une source naturelle importante de molécules bioactives telles que les phycobilines, les acides gras polyinsaturés, les vitamines, les stérols, les composés phénoliques et les caroténoïdes (Siddhnath et *al.*, 2024).

Parmi les différentes espèces de microalgues, la chlorelle (*Chlorella vulgaris*) est particulièrement étudiée en raison de sa richesse en nutriments et de ses multiples effets

bénéfiques sur la santé. Cette microalgue unicellulaire photosynthétique d'eau douce possède des chloroplastes riches en chlorophylle, principal pigment impliqué dans la photosynthèse, ainsi qu'en caroténoïdes tels que la lutéine, l' $\alpha$ -carotène et le  $\beta$ -carotène. La chlorelle est également reconnue pour sa capacité à produire des protéines, des vitamines, des polyphénols et des composés à potentiel biotechnologique, notamment dans les domaines biologiques, nutritionnelles et énergétiques (Eladl et *al.*, 2024 ; Mendes et *al.*, 2024).

Les études récentes ont montré que les microalgues renferment des concentrations importantes de composés phénoliques, reconnus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres par donation d'atomes d'hydrogène ou d'électrons, contribuant ainsi de manière significative à leur activité antioxydante. En raison de cette forte capacité antioxydante, *Chlorella vulgaris*. Représente une ressource prometteuse pour le développement d'ingrédients fonctionnels et d'applications dans les industries pharmaceutique et agroalimentaire (Zakaria et *al.*, 2017 ; Badrunanto et *al.*, 2025)

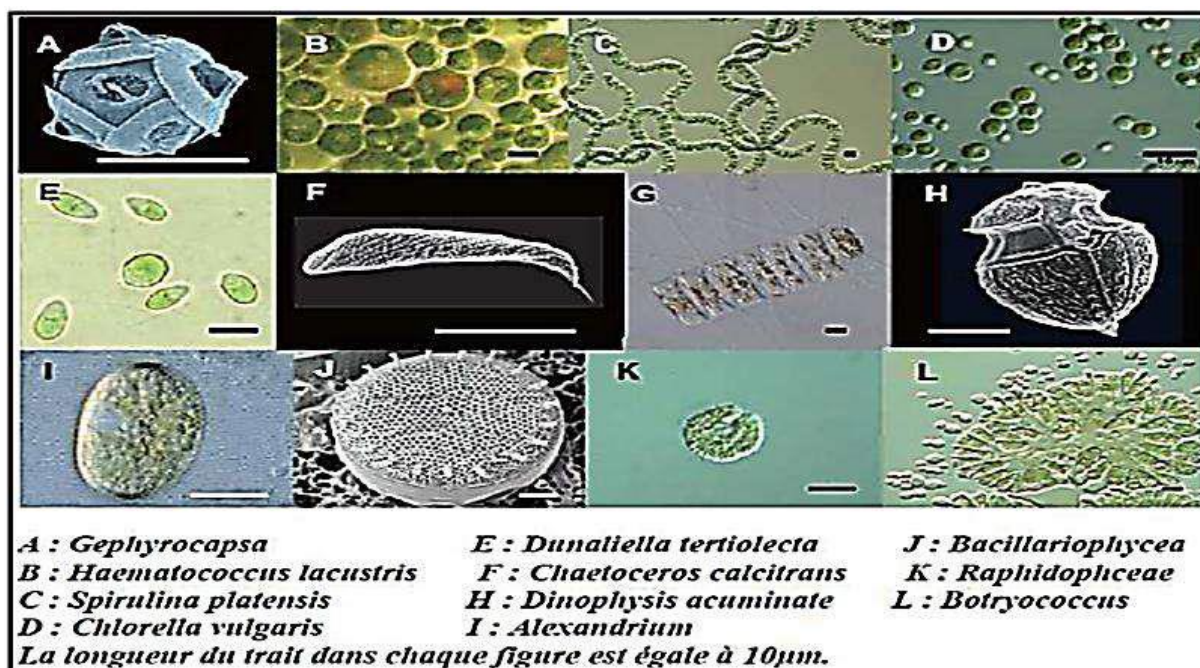
### **1.3. *Chlorella vulgaris***

#### **1.3.1. Définition et origine**

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques essentiels aux écosystèmes aquatiques, utilisant la lumière solaire et le CO<sub>2</sub> pour produire leur biomasse. Elles contribuent à environ 50 % de l'oxygène atmosphérique et représentent une grande diversité d'espèces. Elles constituent également une source importante de composés chimiques exploités dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Figure 1).

Les extraits de microalgues marines se distinguent par leur forte concentration en protéines, vitamines et minéraux. Ils représentent également une excellente source de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Parmi ces microalgues figure notamment *chlorella vulgaris* (Kurnia et *al.*, 2020).

*Chlorella vulgaris* est une microalgue verte unicellulaire eucaryote, très ancienne et apparue dès le Précambrien. Elle est largement distribuée dans le monde, présente aussi bien en eau douce qu'en eau salée, ce qui témoigne de sa forte capacité d'adaptation. Elle est particulièrement abondante en Asie de l'Est, notamment en Chine, au Japon et en Corée. Utilisée depuis longtemps comme complément nutritionnel pour ses bienfaits sur la santé, elle suscite également un intérêt croissant pour des applications en cosmétique et en bioplastiques (Hein et *al.*, 2025).



**Figure 1.** Diversité morphologique des microalgues (Fillali, 2012)

A : *Gephyrocapsa*, B : *haematococcus lacustris*, C : *Spirulina platensis*, D : *Chlorella vulgaris*, E : *Dunaliella tertiolecta*, F : *Chaetoceros calcitrans*, H : *Dinophysis acuminata*, I : *Alexandrium*, J : *Bacillariophyceae*, K : *Raphidophyceae*, L : *Botryococcus* (échelle : 10 μm).

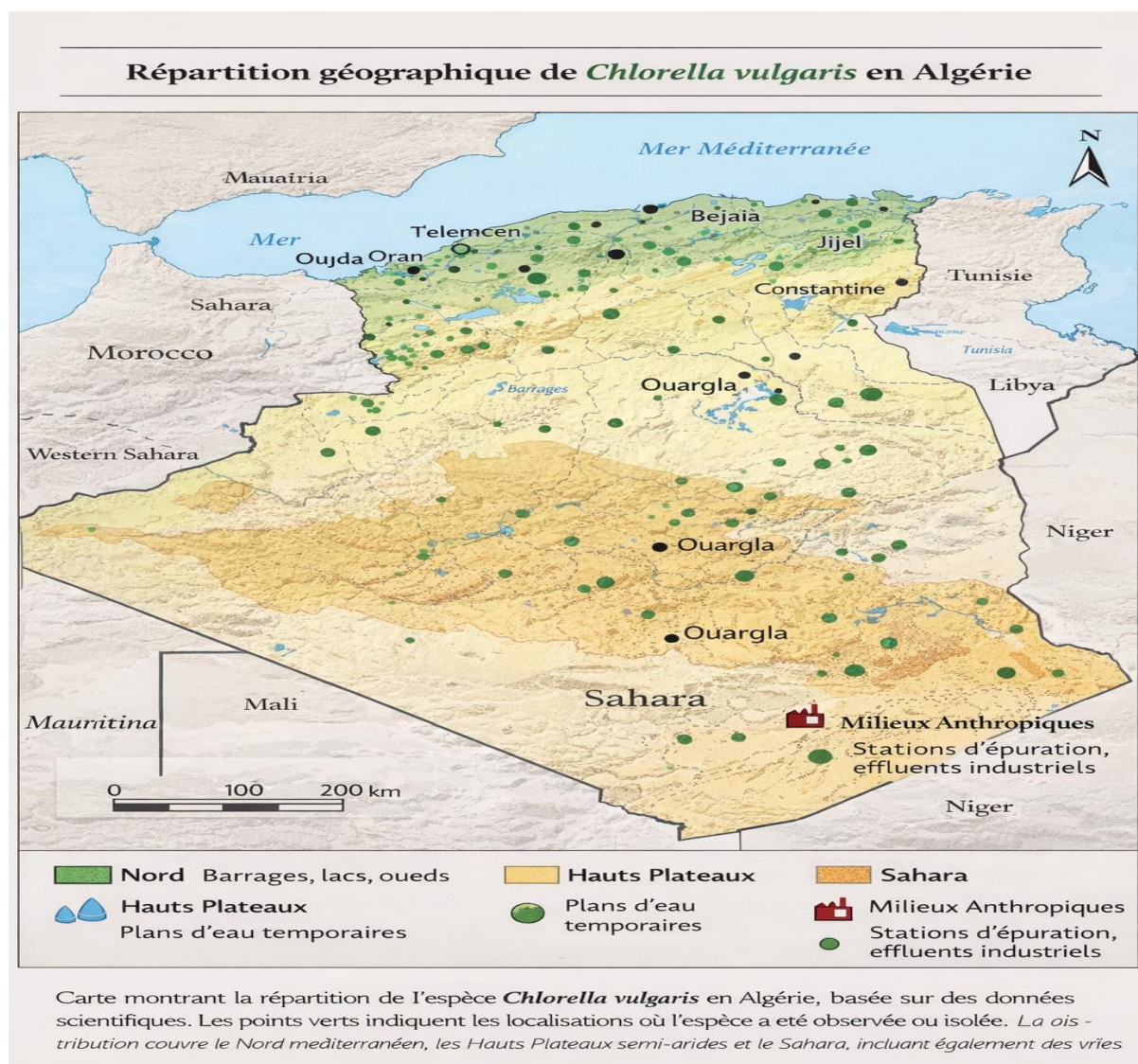
### 1.3.2. Distribution géographique et habitat

Les microalgues sont très adaptables aux conditions difficiles et abiotiques. La plupart des espèces d'algues se développent dans divers milieux aquatiques (océans, rivières, lacs, etc.), en milieu humide et ensoleillé (Suphadra et Edwards, 2010). Cela leur permet de s'adapter et de survivre dans des environnements écologiques variés : des glaces polaires aux déserts, en passant par les régions arides et semi-arides, et les sources thermales. Il existe également des algues qui vivent dans des milieux très salins, alcalins ou acides (Sialf et Stair, 2008).

Certaines espèces peuvent survivre dans des grottes, où elles forment des relations symbiotiques avec toutes sortes d'organismes, y compris des parasites, comme l'être humain. Elles ont la capacité de se développer sur des surfaces dures, telles que les murs, les troncs d'arbres et même le sol (Becerra-Cilis, 2009). Il existe aussi des espèces d'algues qui se développent dans des conditions de très faible luminosité (Suphadra et Edwards, 2010).

Sa capacité à se propager est due à deux caractéristiques : premièrement, ses caractéristiques morphologiques (l'absence de structures complexes et la présence d'une structure de paroi cellulaire spécifique), et deuxièmement, un processus métabolique dirigé capable, entre autres, de synthétiser différents types de métabolites, notamment des métabolites secondaires (Filali, 2012 ; Gobrini et al., 2014).

En Algérie, la microalgue *Chlorella vulgaris* présente une répartition relativement large, bien que les données restent fragmentaires et principalement issues d'études locales. Cette espèce a été isolée dans différents types d'écosystèmes, notamment dans les milieux sahariens où des souches ont été identifiées dans la région de Ouargla, confirmant sa capacité à survivre dans des conditions arides extrêmes (Boual et *al.*, 2021). Par ailleurs, des souches appartenant au genre *Chlorella vulgaris* ont été isolées dans des zones forestières du nord de l'Algérie, comme le parc national du Djurdjura, ce qui suggère une distribution couvrant à la fois les régions humides méditerranéennes et les zones semi-arides (Khaldi et Zeggaoui, 2014). Cette diversité de milieux colonisés s'explique par la grande plasticité écologique de *Chlorella vulgaris*, capable de se développer dans des eaux douces, des sols humides et même des environnements pollués ou riches en nutriments, notamment les eaux usées (Naït Saidi, 2024) (Figure 2).

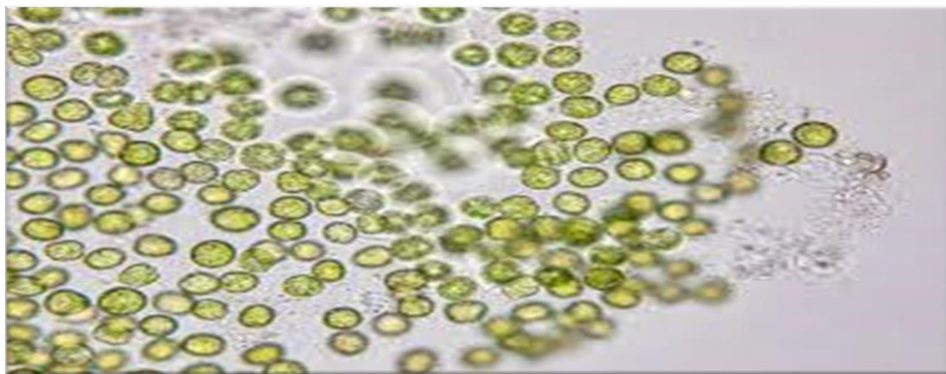


**Figure 2.** Répartition géographique de *Chlorella vulgaris* en Algérie (GBIF, 2026).

### 1.3.3. Classification taxonomique

*Chlorella vulgaris*, c'est une algue verte unicellulaire d'eau douce immobile (Figure 3), qui appartient à la classification suivante (Hamouda Ali, 2019) :

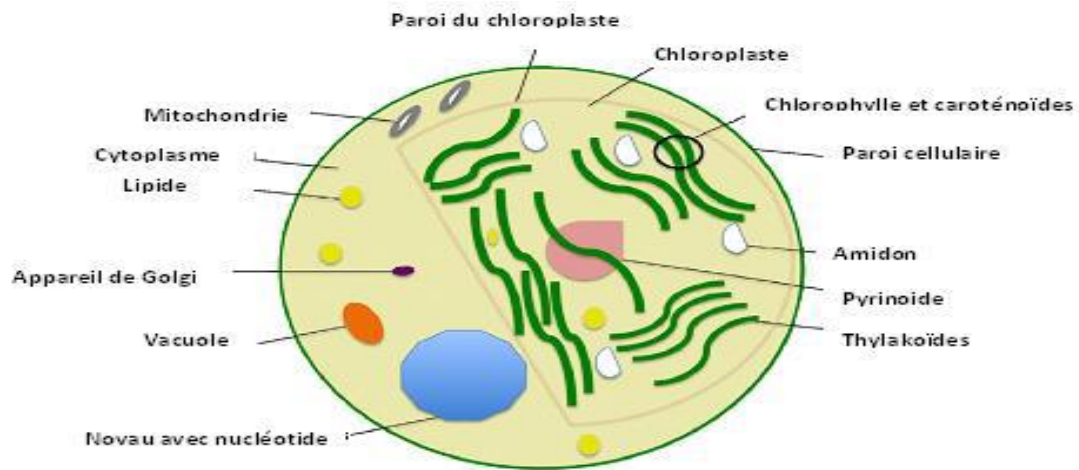
- **Règne** : Eucaryote ;
- **Sous règne** : Protista ;
- **Embranchement** : Chlorophyta ;
- **Classe** : Trebouxiophyceae ;
- **Ordre** : Chlorococcales ;
- **Famille** : Chlorellaceae
- **Genre** : *Chlorella* ;
- **Espèce** : *vulgaris*.



**Figure 3.** Vue microscopique de *Chlorella vulgaris* (objectif 40×) (Zhou et al., 2023).

Les cellules de *Chlorella vulgaris* sont généralement sphériques, de 2 à 10 µm de diamètre, et présentent une coloration jaune-verdâtre. Elles possèdent une paroi cellulaire rigide riche en sporopolynine, caractérisée par une structure multicouche, ce qui contribue à leur grande résistance aux traitements chimiques et enzymatiques. Cette paroi joue un rôle essentiel dans la protection cellulaire et le maintien de l'intégrité structurale, avec une rigidité qui peut varier selon le stade de croissance (Weber et al., 2022).

Au début de sa formation dans l'autocytoplasme, la paroi cellulaire est encore fragile et se présente sous forme d'une monocouche très fine d'environ 2 nm. Avec la maturation, elle s'épaissit progressivement pour atteindre 17 à 21 nm, tout en développant une fine couche fibreuse riche en chitosane et en glucosamine, ce qui lui confère une rigidité accrue (Figure 4). Toutefois, l'épaisseur et l'organisation de cette paroi restent variables au cours de la croissance et peuvent être influencées par les conditions environnementales (Safi et al., 2014).



**Figure 4.** Schéma de l'ultrastructure de *Chlorella vulgaris* (Safi et *al.*, 2014).

#### 1.4. Conditions de culture et de croissance de la microalgue

La culture des microalgues présente un fort intérêt dans plusieurs domaines, nécessitant des systèmes de production efficaces. Elle repose principalement sur deux méthodes : les systèmes ouverts, tels que les bassins exposés à l'air, et les systèmes fermés, appelés photobioréacteurs, où les conditions sont contrôlées (Bouacem, 2023).

##### 1.4.1. Systèmes ouverts

Ces systèmes se distinguent par leur simplicité de mise en œuvre, leur faible coût énergétique et leur facilité d'entretien. Ils utilisent principalement la lumière naturelle, ce qui élimine le recours à un éclairage artificiel. Cependant, les microalgues cultivées dans ces systèmes restent fortement influencées par les variations journalières et saisonnières de la température et de l'intensité lumineuse (Figure 5) (Zhang et *al.*, 2024).



**Figure 5.** Bassins naturels (Bouacem, 2023).

Elles sont également plus susceptibles à la contamination (par des bactéries, des champignons, des protozoaires et d'autres types de microalgues) et subissent d'importantes pertes d'eau par évaporation. Par conséquent, le contrôle de leurs conditions de culture est complexe. Toutes les microalgues ne résistent pas aux conditions difficiles telles qu'un pH élevé, une température élevée ou une forte salinité. Trois principaux types de systèmes sont utilisés à l'échelle industrielle : les lacs et étangs naturels (écosystèmes naturels), les bassins circulaires (Figure 6) et les bassins de type cours d'eau (Figure 7) (Bouacem, 2023).



**Figure 6.** Bassins artificiels circulaires (Bouacem, 2023).



**Figure 7.** Bassin de type *raceway* (Bouacem, 2023).

### 1.4.2. Systèmes fermés (PBR)

Les photobioréacteurs (PBR) sont des systèmes fermés conçus pour assurer un contrôle précis des conditions de culture des microalgues (Figure 8). Ils permettent de maintenir des paramètres optimaux tels que la lumière, le CO<sub>2</sub>, le pH et la température, favorisant ainsi une conversion efficace de l'énergie lumineuse en biomasse par photosynthèse. Ces systèmes offrent une productivité élevée et une meilleure maîtrise du processus par rapport aux systèmes ouverts (Penloglou et *al.*, 2024).

Le principe d'un photobioréacteur est de fournir un environnement clos pour la croissance de micro-organismes dans des conditions de culture contrôlées. Ceci est réalisé en leur fournissant de la lumière et du dioxyde de carbone pour produire de la biomasse microbienne par photosynthèse. Il est donc essentiel de surveiller les conditions de culture telles que la température, la disponibilité des nutriments, l'homogénéité du milieu et le pH (Olivo, 2007).



**Figure 8.** Photobioréacteurs tubulaires de l'université de Wageningen Algae Parc (Vian et *al.*, 2013).

### 1.4.3. Les conditions de culture

#### a) Énergie lumineuse

Les algues *Chlorella vulgaris* réalisent la photosynthèse en utilisant la lumière comme principale source d'énergie. Ce processus se déroule à des longueurs d'onde comprises entre 400 et 700 nanomètres, ce qui correspond à la gamme d'irradiance photoactive. Cette lumière stimule la prolifération cellulaire, augmente la concentration cellulaire et favorise la production de biomasse (Greque de Morais et *al.*, 2015). Des conditions d'éclairage optimales sont obtenues par l'alternance de périodes de lumière et d'ombre (Celis, 2010). La lumière artificielle

peut également être utilisée pour produire un spectre lumineux spécifique, conçu pour l'absorption des pigments souhaités (Benamor, 2015).

### **b) Température**

La température c'est un régulateur central, permet régler les réponses cellulaires, physiologique et morphologiques des microalgues. La plupart des espèces présentent une tolérance thermique compris entre 15 et 26 C° avec une concentration cellulaire optimale à 23C°. De plus, l'augmentation de la température influence le métabolisme de fixation de CO<sub>2</sub> par les microalgues (Kumar et *al.*, 2010).

### **c) Agitation**

L'agitation joue un rôle clé dans la culture des microalgues en améliorant la productivité en biomasse. Elle favorise la pénétration de la lumière, optimise les échanges gazeux (notamment l'absorption du CO<sub>2</sub>) et permet l'élimination de l'oxygène produit lors de la photosynthèse. Généralement assurée par l'injection de gaz ou d'air sous forme de microbulles, elle crée une circulation homogène du milieu. Toutefois, son effet dépend de la densité cellulaire : il est limité en culture diluée mais devient crucial en forte densité, où une agitation excessive peut toutefois provoquer des dommages cellulaires dus au cisaillement (Attal, 2023).

### **d) Dioxyde de carbone**

Les photobioréacteurs (PBR) sont des systèmes fermés permettant un contrôle précis des conditions de culture des microalgues. Ils optimisent l'utilisation de la lumière et du CO<sub>2</sub> afin de maximiser la photosynthèse et la production de biomasse. Dans ces systèmes, le CO<sub>2</sub> est généralement injecté sous forme de gaz enrichi, ce qui améliore significativement la fixation du carbone et la croissance algale dans des conditions contrôlées (Sun et *al.*, 2025).

### **e) Éléments minéraux**

L'azote est un nutriment essentiel chez *Chlorella vulgaris*, car il intervient dans la synthèse des protéines, ce qui favorise la production de biomasse ainsi que la teneur en chlorophylle. Le phosphore, apporté sous forme de monophosphate, joue un rôle clé dans le transfert d'énergie et la synthèse des acides nucléiques, tout en contribuant à la détoxification cellulaire grâce à la formation de polyphosphates capables de séquestrer les métaux. Par ailleurs, le magnésium est indispensable à la photosynthèse puisqu'il constitue l'atome central de la chlorophylle et participe également à la formation des ribosomes et de certaines enzymes comme la catalase (Ben Ayed, 2015).

### **f) pH**

La régulation du pH constitue un paramètre essentiel pour optimiser la croissance des microalgues, notamment chez les espèces sensibles aux conditions environnementales. De

nombreuses études récentes ont montré que la croissance de *Chlorella vulgaris* est favorisée dans des conditions proches de la neutralité à légèrement alcalines, permettant une meilleure assimilation des nutriments et une productivité accrue en biomasse (Nurrusyda et *al.*, 2024).

### 1.5 . Composition biochimique et valeur nutritionnelle

*Chlorella vulgaris* se caractérise par sa riche composition chimique, ce qui le rend très précieux pour diverses industries, notamment l'agroalimentaire, la pharmacie, les compléments alimentaires et l'alimentation animale. Il contient une excellente source de protéines, lipides, glucides, vitamines, minéraux et pigments (Kay et *al.*, 2022).

#### 1.5.1. Protéines

Les protéines sont des nutriments essentiels à la croissance et à la santé humaines, abondent dans les microalgues et sont apparues depuis les années 1950 comme une nouvelle source de protéines (Mahendran et *al.*, 2021). La *Chlorella vulgaris* est un type de microalgue caractérisé par sa teneur élevée qui peut atteindre 60 à 70 % du poids sec, ce qui en fait un candidat précieux pour les applications alimentaires fonctionnelles. De même, la *chlorelle* est une source riche de protéines de haute qualité car elle contient tous les acides essentiels de sécurité (Tableau 1).

Il contient également de grandes quantités d'acides de sécurité non essentiels tels que l'arginine et l'alanine glycine (Seul dogha et *al.*, 2022). Cette formule fait de la *chlorelle* une alternative compétitive aux sources traditionnelles de protéines telles que la farine de soja, les œufs et la viande. D'autres études ont confirmé que l'analyse enzymatique de ces protéines conduit à la production de peptides efficaces aux propriétés bénéfiques pour la santé. Par exemple, cette étude a été menée sur *C. vulgaris* et *C. ellipsoidea*, des peptides antioxydants, antitumoraux et hypotenseurs (Kay et *al.*, 2022).

**Tableau 1.** Composition en acides aminés d'*A. platensis* et de *C. vulgaris*

(Kay et *al.*, 2022).

| Acides aminés | <i>A. platensis</i> | <i>C. vulgaris</i> |
|---------------|---------------------|--------------------|
| Isoleucine    | 5.40–7.40           | 4.00–5.50          |
| Leucine       | 7.80–10.00          | 6.00–7.50          |
| Valine        | 5.60–8.00           | 4.50–6.00          |
| Lysine        | 4.30–6.20           | 3.50–5.00          |
| Phénylalanine | 4.50–6.50           | 3.20–4.30          |
| Tyrosine      | 3.90–5.30           | 2.60–3.60          |
| Méthionine    | 1.80–3.50           | 1.80–3.00          |
| Cystéine      | 0.80–2.00           | 1.00–2.00          |

|                    |             |           |
|--------------------|-------------|-----------|
| <b>Tryptophane</b> | 0.20–0.60   | 0.40–0.70 |
| <b>Thréonine</b>   | 5.30–7.20   | 3.00–5.00 |
| <b>Histidine</b>   | 1.50–3.00   | 1.50–2.50 |
| <b>Alanine</b>     | 8.90–11.50  | 4.00–6.00 |
| <b>Arginine</b>    | 6.80–8.70   | 5.00–7.00 |
| <b>Asparagine</b>  | 10.60–12.90 | 6.00–8.00 |
| <b>Glutamine</b>   | 9.60–11.20  | 7.00–9.00 |
| <b>Glycine</b>     | 5.10–7.00   | 3.00–4.50 |
| <b>Proline</b>     | 3.80–5.40   | 2.00–3.50 |
| <b>Sérine</b>      | 4.20–6.20   | 3.50–5.00 |

### 1.5.2. Lipides

La teneur en matières grasses de *Chlorella. vulgaris* varie d'environ 5 % à 58 %, et se compose principalement d'acides gras polyinsaturés (AGPI). Ces acides comprennent l'acide linoléique (18 :2n-6), l'acide oléique (18 :1n-9), l'acide palmitique (16 :0), l'acide alpha-linolénique et l'acide alpha-linolénique (18 :3n-3). L'acide linoléique et l'acide alpha-linolénique sont considérés comme les principaux acides gras oméga-6 et oméga-3, respectivement (Tableau 2).

La composition en acides gras de *C. vulgaris* a suscité un intérêt considérable en raison de ses bienfaits pour la santé, notamment ses effets anti-inflammatoires et ses propriétés protectrices du système cardiovasculaire, contribuant ainsi à une meilleure santé cardiaque globale (Mendes et *al.*, 2024).

**Tableau 2.** Teneur en acide gras de *Chlorella vulgaris* (Levy, 2023)

| <b>Lipides</b>                     | <b>Formule</b> | <b>/100g de <i>Chlorella vulgaris</i></b> |
|------------------------------------|----------------|-------------------------------------------|
| <b>Acide palmitique</b>            | C16 :0         | 1800 – 2000 mg                            |
| <b>Acide stearique</b>             | C18 :0         | 130 – 160 mg                              |
| <b>Acide oleique</b>               | C18 :1w9c      | 350 – 450 mg                              |
| <b>Acide linoleique (omega 6)</b>  | C18 :2w6cc     | 1600 – 2100 mg                            |
| <b>Acide linolenique (omega 3)</b> | C18 :3w3c      | 2400 – 2800 mg                            |
| <b>Acide gras sature</b>           | 2,0 – 3,0 g    |                                           |
| <b>Acide gras mono insature</b>    | 0,9 – 1,1 g    |                                           |
| <b>Acide gras poly insature</b>    | 4,0 – 5,0 g    |                                           |
| <b>Acide gras omega 3</b>          | 2,4 – 3,0 g    |                                           |

### 1.5.3. Glucides

Depuis 2012, plusieurs travaux scientifiques ont mis en évidence les effets bénéfiques des glucides issus de *Chlorella vulgaris*. Panahi et *al.* (2012) ont notamment démontré que cette microalgue, utilisée en complément alimentaire, contribue à l'amélioration du profil lipidique sanguin. En 2013, Hsu et *al.* Ont confirmé les propriétés antioxydantes de la chlorophylle, en particulier sa capacité à neutraliser les radicaux libres, tandis que Hosseini et *al.* (2013) ont

souligné l'intérêt des polysaccharides sulfatés pour des applications médicales et nutritionnelles, notamment en raison de leurs propriétés antivirales.

En 2014, Safi et *al.* ont mis en évidence la richesse de la biomasse de *C. vulgaris* en fibres alimentaires, tout en montrant que la composition en acides gras varie selon les conditions de culture. Ces résultats ont été complétés par Zhang et *al.* (2014), qui ont étudié l'influence des paramètres de croissance sur la production lipidique. Par ailleurs, Bozbulut et Sanlier (2019) ont démontré que les fibres solubles, notamment le bêta-glucane, jouent un rôle important dans la régulation de la glycémie et la réduction du cholestérol.

Plus récemment, Souza et *al.* (2020) ont analysé les techniques d'extraction des glucides ainsi que leurs applications biologiques potentielles. En 2022, Orusmurzaeva et *al.* ont caractérisé la composition chimique des polysaccharides complexes et leur implication dans la stimulation du système immunitaire. Enfin, Velankanni et *al.* (2023) ont montré que *C. vulgaris* exerce un effet positif sur la modulation du microbiote intestinal et la santé digestive, tandis que Zhong et *al.* (2023) ont mis en évidence le rôle central du bêta-glucane comme puissant régulateur immunitaire.

#### 1.5.4. Vitamines et minéraux

La microalgue (*C. vulgaris*) constitue une source de minéraux essentiels (calcium, potassium, magnésium et zinc) et contient des quantités importantes de vitamines (A, B1, B2, B6, B12, C, E, niacine et nicotinate) (Tableau 3). De plus, il renferme de faibles quantités d'acides tels que l'acide folique, la biotine, l'inositol et la choline (Kholif et Olafadehan, 2021).

**Tableau 3.** Teneur en vitamines de *Chlorella vulgaris* (Levy, 2023).

| Vitamines                    | Pour 100g de <i>Chlorella vulgaris</i> |
|------------------------------|----------------------------------------|
| <b>Vit B<sub>6</sub></b>     | 900 - 1100 µg                          |
| <b>Vit B<sub>9</sub></b>     | 180 – 350 µg                           |
| <b>Vit B<sub>12</sub></b>    | 80 – 150 µg                            |
| <b>Vit C</b>                 | 10 – 20 mg                             |
| <b>Vit A ou Caroténoïdes</b> | 130 – 400 mg                           |
| <b>Vit E</b>                 | 5 – 10 mg                              |
| <b>Vit K</b>                 | 0,01 – 0,062 mg                        |

Par ailleurs, *C. vulgaris* apporte des quantités adéquates de sélénium et de l'iode, deux oligo-éléments cruciaux pour la santé humaine et animale (Tableau 4). En raison de leur rôle dans la formation de la glutathion peroxydase, une enzyme essentielle pour limiter les effets

néfastes des réactions de peroxydation sur les cellules vivantes. Sa richesse en vitamines et minéraux en fait une excellente source de micronutriments essentiels (Kholif et Olafadehan, 2021).

**Tableau 4.** Teneur en minéraux de *Chlorella vulgaris* (Levy, 2023).

| Minéraux  | Pour 100g de <i>Chlorella vulgaris</i> |
|-----------|----------------------------------------|
| <b>Na</b> | 1,35 g                                 |
| <b>K</b>  | 1,13 g                                 |
| <b>Ca</b> | 0,3 g                                  |
| <b>Mg</b> | 0,35 g                                 |
| <b>P</b>  | 1,2 g                                  |
| <b>Zn</b> | 0,55                                   |
| <b>Fe</b> | 0,52                                   |

#### 1.5.5. Pigments

Les microalgues produisent différents pigments essentiels à la photosynthèse et à leur adaptation environnementale, au-delà de leur rôle dans l'absorption de la lumière (Silva et *al.*, 2020). Ces pigments comprennent principalement les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobilines, respectivement lipophiles et hydrophiles selon leur nature (Tableau 5). Leur diversité structurale leur confère de nombreuses activités biologiques, ce qui en fait des composés prometteurs pour des applications en biotechnologie, notamment en santé, en cosmétique et comme colorants naturels (Mahmoud et *al.*, 2024).

**Tableau 5.** Teneur en pigments de *Chlorella vulgaris* (Levy, 2023)

| Pigments              | <i>Chlorella vulgaris</i> |
|-----------------------|---------------------------|
| <b>β carotene</b>     | 7 - 12 µg                 |
| <b>Chlorophylle A</b> | 250 - 9630 µg             |
| <b>Chlorophylle B</b> | 72 - 5770 µg              |
| <b>Pheophytine A</b>  | 2310 - 5640 µg            |
| <b>Pheophytine B</b>  | N/D                       |
| <b>Lutéine</b>        | 52 – 3830 µg              |

#### 1.5.6. Composés bioactifs

*Chlorella vulgaris* est considérée comme l'une des microalgues les plus riches en composés bioactifs grâce à sa composition chimique variée et à sa haute valeur nutritionnelle et thérapeutique. Cette microalgue contient une teneur élevée en protéines de haute qualité renfermant tous les acides aminés essentiels, ce qui en fait une source protéique importante comparable à certaines sources végétales et animales. Elle renferme également des acides gras polyinsaturés tels que les oméga-3 et oméga-6, connus pour leur rôle dans la protection cardiovasculaire et la réduction de l'inflammation. De plus, *Chlorella vulgaris* contient des

polysaccharides et des fibres alimentaires contribuant à l'amélioration de la santé digestive ainsi qu'à la régulation de l'absorption du glucose et du cholestérol. Cette microalgue est aussi riche en pigments bioactifs comme la chlorophylle, la lutéine et le bêta-carotène, reconnus pour leur forte activité antioxydante et leur capacité à réduire le stress oxydatif. Elle constitue également une source importante de vitamines et de minéraux essentiels tels que le fer, le magnésium, le calcium et le zinc, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. En outre, *Chlorella vulgaris* contient des métabolites secondaires, notamment les polyphénols et les stérols, possédant des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et immunomodulatrices. Grâce à cette diversité de composés bioactifs, *Chlorella vulgaris* suscite un grand intérêt dans les domaines de l'alimentation fonctionnelle, de l'industrie pharmaceutique et des compléments alimentaires à visée thérapeutique (Mendes et *al.*, 2024).

### 1.6. Valeurs nutritionnelles

Les algues *Chlorella vulgaris* sont riches en protéines (environ 60 %) et en acides aminés essentiels, acides gras, fibres, vitamines et minéraux (Tableau 6), ce qui en fait une excellente source nutritionnelle (Gerschwin et Pillay, 2007 ; Liu et Hu, 2013). Dans les années 1980, la *Chlorella vulgaris* était également utilisée dans l'alimentation animale en remplacement du tourteau de soja pour le bétail.

**Tableau 6.** Composition nutritionnelle moyenne de *Chlorella vulgaris* (Furbeyre, 2017).

|                                  | <i>Chlorella vulgaris</i> | Unité                |
|----------------------------------|---------------------------|----------------------|
| <b>Composition générale</b>      |                           | <b>%MG</b>           |
| Protéines                        | 42-68                     | %MG                  |
| Lipides                          | 8-22                      | %MG                  |
| Glucides                         | 10-17                     | %MG                  |
| Matière minérale                 | 5-9                       | %MG                  |
| Cellulose brute                  | 21,4                      | %MG                  |
| Energie                          | 1291                      | KJ/100g              |
| <b>Acides gras</b>               |                           |                      |
| Myristique (C14 :0)              | 0,7-0,9                   | % acides gras totaux |
| Palmitique (C16 :0)              | 14,4-20,4                 | % acides gras totaux |
| Palmitoléique (C16 :1)           | 4,0-5,8                   | % acides gras totaux |
| Stéarique (C18 :0)               | 1,6-15,3                  | % acides gras totaux |
| Oléique (C18 :1 n-6)             | 17,6                      | % acides gras totaux |
| Linoléique (C18 :2 n-6)          | 12 ,0                     | % acides gras totaux |
| Gamma-linolénique (C18 :3 n-6)   | n.d.                      | % acides gras totaux |
| Alpha-linolénique (C18 :3 n-3)   | 15,8                      | % acides gras totaux |
| Docosahexaénoïque (C22 :6 n-3)   | 0,3                       | % acides gras totaux |
| Acides gras saturés totaux       | 25,1-25,3                 | % lipides totaux     |
| Acides gras monoinsaturés totaux | 15,7-28,0                 | % lipides totaux     |

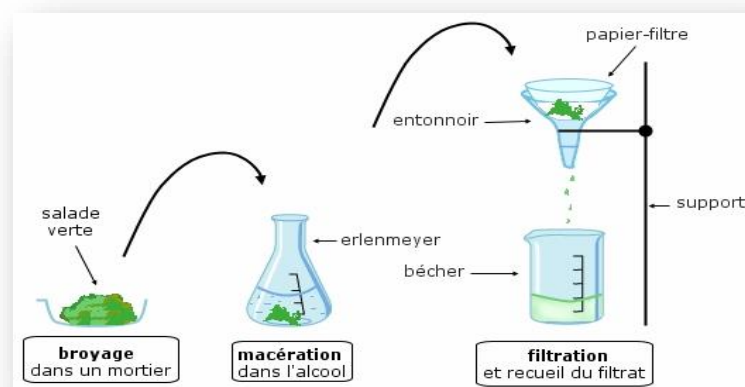
|                                         |           |                  |
|-----------------------------------------|-----------|------------------|
| Acides gras polyinsaturés totaux        | 38,3-58,5 | % lipides totaux |
| <b>Acides aminés (g/100g protéines)</b> |           |                  |
| Lysine                                  | 5,4-7,5   | g/100g protéines |
| Phénylalanine                           | 3,9-6,0   | g/100g protéines |
| Leucine                                 | 7,2-9,5   | g/100g protéines |
| Isoleucine                              | 3,2-4,0   | g/100g protéines |
| Méthionine                              | 0,6-2,5   | g/100g protéines |
| Histidine                               | 1,2-2,0   | g/100g protéines |
| Valine                                  | 3,1-7,0   | g/100g protéines |
| Thréonine                               | 3,5-7,9   | g/100g protéines |
| Tryptophane                             | 1,8-16,1  | g/100g protéines |
| Glutamine                               | 9,1-13,7  | g/100g protéines |
| Acide aspartique                        | 7,2-10,9  | g/100g protéines |
| Arginine                                | 5,6-10,3  | g/100g protéines |
| Alanine                                 | 6,6-10,9  | g/100g protéines |
| Glycine                                 | 4,6-8,6   | g/100g protéines |
| Proline                                 | 3,0-5,0   | g/100g protéines |
| Sérine                                  | 3,2-7,8   | g/100g protéines |
| Tyrosine                                | 2,8-8,4   | g/100g protéines |
| Cystéine                                | 0-1,3     | g/100g protéines |

n.d : non déterminer.

## 1.7. Techniques d'extraction des composés bioactifs

### 1.7.1. Extraction par macération

La macération est une technique d'extraction classique consiste à immerger la matière végétale dans un solvant à température ambiante pendant une période prolongée (Figure 9). Les composés dissous se dispersent progressivement dans le solvant par simple diffusion. Il s'agit de la méthode d'extraction la plus simple, et elle peut être répétée plusieurs fois pour garantir l'extraction complète des composants actifs de la plante et améliorer le rendement. Cependant, son principal inconvénient réside dans la durée du processus, qui peut s'étendre sur plusieurs jours, voire plusieurs semaines (Zerina, 2015). Pour une efficacité d'extraction maximale, il est conseillé d'utiliser un récipient hermétiquement fermé et de remuer régulièrement le mélange, ce qui favorise la dispersion des composés dans le liquide (Naviglio et *al.*, 2019).



**Figure 9.** Les étapes d'extraction par macération (Kassous et Salem, 2025)

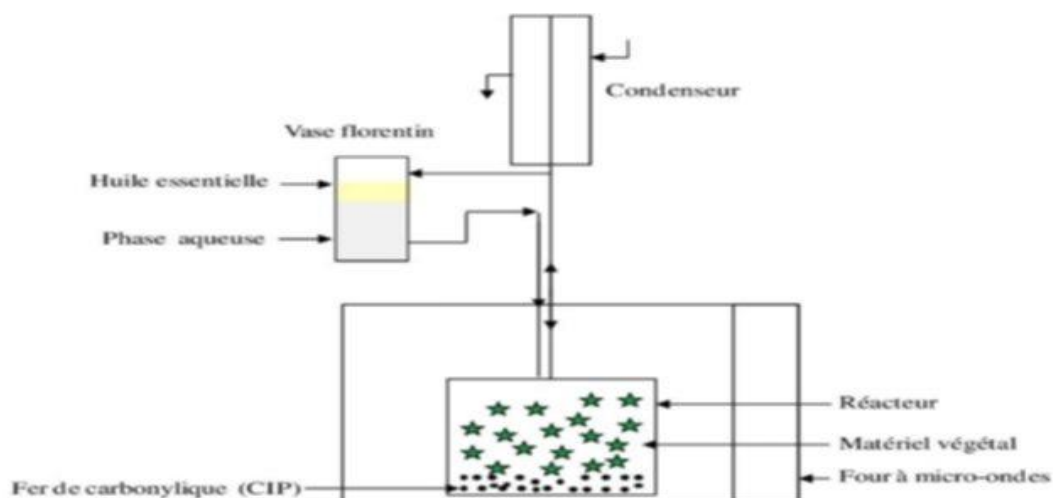
### **1.7.2. Extraction par ultrasons**

L'extraction assistée par ultrasons constitue une technologie d'extraction verte largement utilisée en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de son efficacité. Cette technique repose sur l'application d'ondes ultrasonores à une matrice végétale ou biologique immergée dans un solvant liquide, favorisant ainsi le transfert des composés intracellulaires vers le milieu d'extraction (Chemat *et al.*, 2017).

Le mécanisme d'extraction par ultrasons est principalement basé sur le phénomène de cavitation acoustique. La propagation des ondes ultrasonores dans le milieu liquide entraîne l'alternance cyclique de zones de compression et de raréfaction, générant des variations locales de pression. Ces fluctuations provoquent la formation de microbulles de cavitation qui croissent progressivement jusqu'à atteindre une taille critique. L'implosion brutale de ces bulles libère une importante quantité d'énergie sous forme de fortes pressions locales, de températures élevées et de microjets turbulents. Ce phénomène favorise la désorganisation des parois cellulaires, améliore la perméabilité membranaire et facilite ainsi la libération des composés bioactifs dans le solvant d'extraction (Leong *et al.*, 2016 ; Saïen et Daneshamoz, 2018).

### **1.7.3. Extraction par micro-onde**

Au début des années 1990, une nouvelle méthode d'extraction des composés volatils a été développée : l'hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide (Figure 10). Cette technique repose sur le chauffage de la matrice végétale par irradiation micro-onde dans une enceinte hermétiquement fermée soumise à une pression réduite. L'application des micro-ondes provoque l'échauffement rapide de l'eau intracellulaire contenue dans les tissus végétaux, entraînant sa vaporisation ainsi que celle des composés volatils associés. La réduction de la pression permet d'abaisser la température d'ébullition, limitant ainsi la dégradation thermique des molécules thermosensibles. Les vapeurs générées sont ensuite récupérées par des procédés conventionnels de condensation et de refroidissement afin d'obtenir l'extrait volatil ou l'huile essentielle (Zensani, 2014).



**Figure 10.** L'extraction par micro-ondes (Chemat et *al.*, 2004).

### 1.8. Toxicité et sécurité

Des études ont montré que la *Chlorella vulgaris* aide à réduire les amines cycliques, qui sont des composés cancérigènes produits par la cuisson de la viande à haute température, grâce à sa capacité à réduire la perméabilité de ces substances dans la circulation sanguine ou à accélérer leur élimination (Lee et *al.*, 2015).

L'étude de Azlan et *al.* (2020) visait à évaluer la toxicité aiguë d'un extrait de *Chlorella vulgaris* commun pris par voie orale chez des souris Serbig-Dowley (SD). Les résultats ont indiqué un profil de sécurité positif, en étudiant directement l'extrait de *Chlorella vulgaris* commune et en montrant des effets protecteurs, non toxiques. Jusqu'à 2000 mg/kg de poids corporel ont été testés sans observer de légèreté, de mortalité ou d'anomalies organiques chez les rats. Aucun changement comportemental ou physique n'a été observé. La *chlorella vulgaris* commune peut donc être classée comme non incluse dans le Système général harmonisé (SGH). Les algues *Chlorella vulgaris* sont classées comme généralement sûres (GRAS) par la Food and Drug Administration. Il est autorisé dans l'Union européenne comme ingrédient alimentaire en raison de ses propriétés antioxydantes et de sa capacité à soutenir l'efficacité du foie et des reins pour éliminer les toxines et soutenir l'immunité dans le corps. Cette étude a mis en évidence la biosécurité de l'environnement de production en raison de la grande capacité (Wang et *al.*, 2024).

### 1.9. Domaines d'application

#### 1.9.1. Domaine alimentaire

L'utilisation des microalgues comme source de nourriture remonte à des milliers d'années pour combattre la famine. Les Chinois ont utilisé la microalgue commune de Nostoc

pour assurer leur approvisionnement alimentaire il y a plus de 2 000 ans. Actuellement, la spiruline ou *Arthrospira platysens* est l'une des algues les plus célèbres dans ce domaine (Becerra-Celes, 2009).

Aujourd'hui, environ 145 espèces d'algues comestibles sont recensées, mais trois groupes dominent la production mondiale : les algues rouges (*Porphyra*), dorées (*Laminaria japonica*) et brunes (*Undaria pinnatifida*), représentant près de 99 % des algues consommées (Pierre, 2010). L'intérêt pour les microalgues s'est développé grâce à leur forte teneur en protéines (jusqu'à 60 %), notamment depuis les périodes de pénurie alimentaire du XX<sup>e</sup> siècle. Leur production industrielle a débuté dans les années 1960 au Japon, principalement avec *Chlorella vulgaris*, et s'est étendue en Asie (Jenck et al., 2011). Elles constituent aussi une source importante d'acides gras oméga-3 et 6 ainsi que de pigments comme les caroténoïdes, utilisés dans l'industrie alimentaire et l'aquaculture (Gobriani et al., 2014).

### **1.9.2. Domaine médicale et pharmaceutique**

*Chlorella vulgaris* possède un fort potentiel thérapeutique grâce à ses composés bioactifs tels que la chlorophylle, les caroténoïdes et les polysaccharides. Ces molécules sont associées à des effets anticancéreux en induisant l'apoptose, en inhibant la prolifération tumorale et en limitant le stress oxydatif. Elles présentent également des propriétés antivirales en bloquant l'entrée et la réplication de certains virus, ainsi que des effets anti-inflammatoires via la modulation de cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-6) et de voies comme NF- $\kappa$ B, tout en favorisant l'IL-10. Par ailleurs, *Chlorella vulgaris* contribue au renforcement du système immunitaire et pourrait avoir un intérêt dans la gestion des maladies métaboliques telles que les troubles cardiovasculaires et le diabète de type 2, en améliorant le profil lipidique et la régulation de la glycémie (Mendes et al., 2024).

### **1.9.3. Domaine cosmétique**

Les microalgues, notamment celles du genre *Chlorella vulgaris*, figurent parmi les ingrédients innovants de l'industrie cosmétique grâce à leurs nombreuses propriétés thérapeutiques (Figure 11). Elles sont utilisées comme actifs dans les soins de la peau et des cheveux grâce à leurs fortes propriétés antioxydantes et anti-âge. Leur importance réside dans la haute qualité de leurs composants, en particulier la capacité de leurs protéines à réparer les cellules cutanées fragilisées et à stimuler la production de collagène, réduisant ainsi les rides. Ceci en fait un ingrédient clé des crèmes et lotions, en plus de leurs autres bienfaits essentiels (Bouacem, 2023).



**Figure 11.** Les algues vertes utilisées en cosmétique (Sahoo et Seckbach, 2015).

**Chapitre 2.**  
**Activités antioxydante et antibactérienne de**  
**l'extrait de *Chlorella vulgaris*.**

## 2.1. Activité antioxydante

La recherche expérimentale chez les souris s'est à montrer que les algues de genre chlorelles présentent un effet protecteur contre les risques des composés toxiques et cancérogènes. L'étude de Morita et *al* (1999) à montrer que l'incorporation de chlorelle dans le régime alimentaire contenant des dioxines augmente leur excrétion fécale tout en réduisant leur absorption intestinale. D'autres études ont indiqué que la *Chlorella vulgaris* contribue à diminuer les amines cycliques, des composés cancérogènes résultant de la cuisson de la viande à haute température, en raison de sa capacité à réduire la perméabilité de ces substances à la circulation sanguine ou à accélérer leur élimination. (Lee et *al.*, 2015).

Les algues chlorelles ont été classées comme sûres à la consommation (GRAS - Generally Recognized As Safe) par l'Agence américaine des produits alimentaires et pharmaceutiques (Food and Drug Administration) et est autorisé dans l'Union européenne comme ingrédient alimentaire en raison de ses propriétés antioxydantes et de sa capacité à soutenir l'efficacité du foie et des reins pour éliminer les toxines et soutenir l'immunité dans le corps. Cette étude a mis en évidence la biosécurité de l'environnement de production en raison de la grande capacité des algues à absorber les métaux lourds (tels que le plomb et le cadmium) à partir de milieux de culture contaminés. Il a souligné la nécessité d'observer des normes de contrôle strictes dans les fermes de laboratoire (Wang et *al.*, 2024).

### 2.1.1. Mécanismes d'action

L'étude de Goiris et *al.* (2012) démontre que l'efficacité de l'extraction des antioxydants à partir des microalgues dépend intrinsèquement de la nature du solvant utilisé. Les chercheurs ont comparé une extraction directe à l'éthanol/eau (3/1 V/V) avec un fractionnement en trois étapes utilisant successivement l'hexane, l'acétate d'éthyle et l'eau pour séparer les composés selon leur polarité. Les résultats prouvent que les solvants polaires (comme l'éthanol ou le méthanol) sont les plus performants pour extraire les composés phénoliques, lesquels présentent une corrélation directe avec le pouvoir réducteur mesuré par le test FRAP, particulièrement chez des espèces comme *Phaeodactylum tricornutum*. Ces extraits agissent via des mécanismes multiples, notamment le piégeage des radicaux libres, la réduction des ions métalliques pour stopper l'initiation de l'oxydation, et un rôle d'antioxydants retardateurs de la peroxydation lipidique selon la théorie du "paradoxe polaire". Enfin, l'étude conclut que l'activité antioxydante globale résulte d'une synergie entre les phénols, les caroténoïdes et divers pigments, faisant de l'usage de solvants polaires la méthode optimale pour obtenir des extraits puissants destinés à la protection des systèmes alimentaires (Tableau 7).

**Tableau 7.** Teneur en caroténoïdes, teneur en composés phénoliques et activité antioxydante dans les extraits éthanol/eau de biomasse microalgue (Goiris et *al.*, 2012).

|                                                  | carotenoid content <sup>a</sup><br>(mg.g <sup>-1</sup> D.W.) | phenolic content <sup>a</sup><br>(mg GAE.g <sup>-1</sup> D.W.) | TEAC <sup>a</sup> (μmol<br>trolox eq.g <sup>-1</sup> D.W.) | FRAP <sup>a</sup> (μmol<br>trolox eq.g <sup>-1</sup> D.W.) | AIOLA <sup>a</sup> (μmol<br>trolox eq.g <sup>-1</sup> D.W.) |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <i>Botryococcus braunii</i>                      | 2.10±0.07                                                    | 1.99±0.17                                                      | 53.90±0.76                                                 | 21.83±1.41                                                 | 10.42±0.63                                                  |
| <i>Chaetoceros calcitrans</i>                    | 2.33±0.14                                                    | 1.84±0.11                                                      | 24.24±1.64                                                 | 4.74±0.89                                                  | 22.37±1.34                                                  |
| <i>Chlorella</i> #1                              | 3.04±0.20                                                    | 2.21±0.26                                                      | 51.03±2.04                                                 | 6.37±0.24                                                  | 21.18±1.27                                                  |
| <i>Chlorella</i> #2                              | 2.97±0.51                                                    | 1.47±0.07                                                      | 59.57±2.77                                                 | 9.32±0.51                                                  | 15.59±0.94                                                  |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 1 KAHO           | 1.93±0.19                                                    | 1.47±0.16                                                      | 19.97±1.48                                                 | 64.65±5.80                                                 | n.a. <sup>b</sup>                                           |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 2 KAHO           | 1.02±0.09                                                    | 0.75±0.03                                                      | 9.33±0.24                                                  | 24.34±1.73                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 3 KAHO           | 0.71±0.08                                                    | 1.30±0.25                                                      | 11.57±0.15                                                 | 42.00±2.40                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 4 KAHO           | 0.71±0.03                                                    | 1.70±0.09                                                      | 10.40±0.15                                                 | 38.74±1.26                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 5 KAHO           | 2.17±0.17                                                    | 1.59±0.22                                                      | 11.66±0.20                                                 | 37.05±0.25                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Chlorella vulgaris</i> batch 6 KAHO           | 0.25±0.09                                                    | 1.64±0.11                                                      | 5.40±0.12                                                  | 30.59±3.25                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> 'red phase'       | n.d. <sup>c</sup>                                            | 0.54±0.05                                                      | 5.71±0.12                                                  | 17.36±0.58                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> 'green phase'     | 1.89±0.05                                                    | 1.23±0.06                                                      | 9.12±0.12                                                  | 41.34±2.93                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Isochrysis</i> ISO-T                          | 3.08±0.07                                                    | 2.67±0.22                                                      | 34.94±1.10                                                 | 46.69±0.48                                                 | 38.07±2.28                                                  |
| <i>Isochrysis</i> sp.                            | 7.75±0.13                                                    | 4.57±0.18                                                      | 22.50±0.93                                                 | 53.73±3.21                                                 | 12.90±0.77                                                  |
| Mixed culture #1 (A.C. <sup>d</sup> )            | 0.50±0.02                                                    | 1.64±0.16                                                      | 20.10±1.69                                                 | 3.30±0.13                                                  | 14.92±0.89                                                  |
| Mixed culture #2 (A.C.)                          | 1.04±0.04                                                    | 1.26±0.06                                                      | 36.77±2.79                                                 | 5.31±0.71                                                  | 33.44±2.01                                                  |
| Mixed culture #3 (A.C.)                          | 2.08±0.05                                                    | 3.86±0.21                                                      | 34.50±2.12                                                 | 17.29±2.08                                                 | 45.30±2.71                                                  |
| Mixed culture #4 (W.W.T. <sup>e</sup> )          | 0.23±0.02                                                    | 1.69±0.02                                                      | 11.15±0.03                                                 | 7.93±0.54                                                  | 17.62±1.06                                                  |
| Mixed culture #5 (W.W.T.)                        | 1.39±0.02                                                    | 1.05±0.04                                                      | 20.75±1.59                                                 | 3.54±0.09                                                  | 7.82±0.47                                                   |
| <i>Nannochloropsis oculata</i>                   | 1.65±0.10                                                    | 2.04±0.35                                                      | 20.16±0.98                                                 | 40.68±1.61                                                 | 6.47±0.40                                                   |
| <i>Nannochloropsis</i> sp.                       | 2.17±0.03                                                    | 1.39±0.20                                                      | 25.83±1.09                                                 | 40.80±1.05                                                 | 28.81±1.73                                                  |
| <i>Neochloris oleoabundans</i>                   | 1.56±0.29                                                    | 3.73±0.24                                                      | 64.30±4.57                                                 | 40.72±0.67                                                 | 16.56±0.99                                                  |
| <i>Parachlorella kessleri</i>                    | 2.12±0.04                                                    | 1.38±0.16                                                      | 27.36±1.33                                                 | 39.36±1.77                                                 | 32.24±1.93                                                  |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i>                 | 6.14±0.16                                                    | 3.75±0.46                                                      | 48.90±1.30                                                 | 89.70±1.43                                                 | 46.29±2.78                                                  |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i><br>batch 1 KAHO | 2.88±0.04                                                    | 3.19±0.29                                                      | 11.88±0.29                                                 | 34.90±1.23                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i><br>batch 2 KAHO | 2.26±0.10                                                    | 3.54±0.29                                                      | 4.55±0.01                                                  | 37.19±0.83                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Phaeodactylum tricornutum</i><br>batch 3 KAHO | 3.14±0.06                                                    | 3.48±0.75                                                      | 11.07±0.19                                                 | 58.84±1.50                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Porphyridium cruentum</i>                     | 0.95±0.01                                                    | 1.22±0.05                                                      | 5.14±0.41                                                  | 10.89±0.17                                                 | 1.82±0.11                                                   |
| <i>Scenedesmus obliquus</i>                      | 0.44±0.06                                                    | 1.94±0.16                                                      | 5.87±0.28                                                  | 19.68±1.52                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Schizochytrium</i> sp.                        | n.d.                                                         | 1.94±0.16                                                      | n.d.                                                       | 28.04±0.56                                                 | n.a.                                                        |
| <i>Tetraselmis</i> sp.                           | 2.88±0.29                                                    | 3.74±0.10                                                      | 69.40±1.14                                                 | 46.58±0.60                                                 | 56.38±3.38                                                  |
| <i>Tetraselmis suecica</i>                       | 4.27±0.21                                                    | 1.71±0.57                                                      | 56.46±3.24                                                 | 11.35±0.56                                                 | 27.38±1.64                                                  |
| mean                                             | 2.19                                                         | 2.11                                                           | 25.11                                                      | 30.46                                                      | 23.98                                                       |

<sup>a</sup> mean + stdev (n=3); <sup>b</sup> n.a. = not available; <sup>c</sup> n.d. = not detectable; <sup>d</sup> A.C. = mixed culture used in aquaculture; <sup>e</sup> W.W.T. = mixed culture for waste

### 2.1.2. Principaux composants antioxydants de *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* est une riche source d'antioxydants naturels. Il contient un groupe de nombreux types de composés actifs qui agissent de manière intégrée dans l'inhibition des radicaux libres (Tableau 8). L'un des composés phénoliques les plus importants est qu'ils jouent un rôle important grâce à leur capacité à produire de l'hydrogène. Les flavonoïdes sont également très efficaces pour protéger contre le stress oxydatif, et les alcaloïdes contribuent à l'activité biologique globale. De nombreux composés, y compris les caroténoïdes, sont d'un intérêt particulier en raison de leurs nombreux extraits efficaces (Kurnia et *al.*, 2020).

**Tableau 8.** Analyse qualitative des composés phytochimiques de différents Extraits de *Chlorella vulgaris* (Abdel-Karim et *al.*, 2020)

| <b>Microalgae<br/>Phytochemicals/Extract</b>                    | <b><i>C. vulgaris</i></b> |          |          |          |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------|----------|----------|----------|
|                                                                 | <b>W</b>                  | <b>A</b> | <b>E</b> | <b>M</b> |
| <b>Alkaloid</b>                                                 | +                         | +        | +        | +        |
| <b>Pnols</b>                                                    | +                         | +        | +        | +        |
| <b>Flavonoids</b>                                               | +                         | +        | +        | +        |
| <b>Tannins</b>                                                  | -                         | -        | -        | -        |
| <b>Glycoside</b>                                                | +                         | -        | -        | +        |
| <b>Saponins</b>                                                 | +                         | -        | +        | +        |
| <b>Steroid</b>                                                  | +                         | -        | -        | -        |
| <b>Terpenoids</b>                                               | -                         | -        | -        | -        |
| +=present, -=absent, W=water; A=acetone, E=ethanol, M=Methanol. |                           |          |          |          |

### 2.1.3. Rôle des antioxydants dans la conservation des aliments

La *Chlorelle* est le réservoir d'énergie de la nature en raison de ses multiples utilisations dans des domaines vitaux tels que la production de biocarburants, les suppléments nutritionnels et le traitement des eaux usées. La recherche s'est concentrée sur la valeur fondamentale des antioxydants dans le type de solvant utilisé dans l'extraction, et des études ont confirmé que les composés antioxydants font de la *Chlorelle* une source naturelle prometteuse pour une utilisation dans les industries alimentaire et pharmaceutique comme alternative aux matériaux synthétiques. Ils recommandent la nécessité de mener de futures recherches afin d'identifier les composés chimiques exacts responsables de ces avantages pour la santé (Gamal et *al.*, 2024).

## 2.2. Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

### 2.2.1. Méthode DPPH

Le 1,1-Diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) est un radical relativement stable qui se présente sous forme d'un solide cristallisé, paramagnétique (à cause de l'électron libre) qui se dissout dans les solvants organiques (Munteanu et Apetrei, 2021). Le principe de ce test repose sur la mesure de l'efficacité des composés antioxydants à neutraliser le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Ce dernier est réduit en hydrazine (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) par réaction avec un donneur d'hydrogène. Il en résulte un changement de couleur de la solution, du violet au jaune, dont l'intensité est inversement proportionnelle à l'activité antioxydante présente dans le milieu réactionnel (Adlaoui et *al.*, 2021).

### 2.2.2. Méthode FRAP

Le pouvoir réducteur des extraits est évalué selon une méthode basée sur la capacité des composés antioxydants à réduire les ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en ions ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). L'augmentation de l'absorbance mesurée à 700 nm traduit une intensification de l'activité réductrice des extraits, ce mécanisme constituant l'un des principaux modes d'action des antioxydants par transfert d'électrons (Munteanu et Apetrei, 2021). Le test FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) a également été utilisé afin d'estimer quantitativement la capacité antioxydante totale des échantillons.

Cette méthode repose sur la réduction du complexe ferrique–TPTZ en complexe ferreux sous l'action des antioxydants présents dans le milieu, entraînant l'apparition d'une coloration bleue mesurable spectrophotométrique à 593 nm (Jiménez-Morales et Cañizares-Macias, 2024). Des travaux récents ont confirmé que le test FRAP demeure une méthode simple, rapide et fiable pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits naturels et des matrices biologiques (Jiménez-Morales et Cañizares-Macias, 2026).

## 2.3. Activité antimicrobienne

### 2.3.1. Mécanismes d'action antibactérienne des composés de *Chlorella vulgaris*

Les antibiotiques affectent spécifiquement les fonctions vitales des microbes, avec peu ou pas d'effet sur les fonctions de l'organisme hôte. Le mécanisme d'action des antibiotiques varie selon leur type. Comprendre ces mécanismes et la nature chimique des antibiotiques est essentiel pour comprendre le développement de la résistance bactérienne. Il existe deux types d'antibiotiques : bactéricides et bactériostatiques. Le mécanisme d'action des agents antimicrobiens est classé en fonction de la structure bactérienne ou de la fonction ciblée. Le Tableau 9 illustre les mécanismes d'action de divers agents antibactériens (Hamouda Ali, 2019).

**Tableau 9.** Mécanisme d'action de certains agents antimicrobiens (Hamouda Ali, 2019).

| Composés antimicrobiens | Mécanisme d'action des agents antimicrobiens                                                                                                                                                                        |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Caroténoïdes            | La digestion des parois cellulaires par les enzymes de lysozyme.                                                                                                                                                    |
| Flavonoïdes             | Augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne et une dispersion du potentiel membranaire<br>Augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne interne et dissipation du potentiel de membrane |

|                        |                                                                                                                                                   |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Polyphénols            | Se lie aux adhésines, inhibe les enzymes, provoque une privation de substrat, forme un complexe avec la paroi cellulaire et perturbe la membrane. |
| Polysaccharide         | Inhibition de l'hyaluronidase.                                                                                                                    |
| Acides gras et Lipides | Rupture de la membrane cellulaire                                                                                                                 |

### 2.3.2. Composés responsables de l'activité antibactérienne

*Chlorella vulgaris* est une microalgue reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, responsables de ses importantes propriétés antibactériennes et antioxydantes. Son activité antimicrobienne est principalement attribuée à l'action synergique de plusieurs biomolécules, notamment les peptides bioactifs, les acides gras insaturés et les polysaccharides. Ces composés exercent leurs effets en altérant l'intégrité et la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes, conduisant ainsi à l'inhibition de la croissance de nombreuses bactéries Gram-positives, telles que *Staphylococcus aureus*, ainsi que de bactéries Gram-négatives comme *Escherichia coli*.

Par ailleurs, *C. vulgaris* présente une activité antioxydante élevée liée à sa forte teneur en pigments photosynthétiques, notamment la chlorophylle et les caroténoïdes tels que la lutéine, ainsi qu'en composés phénoliques. Ces métabolites bioactifs contribuent à la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène par des mécanismes de transfert d'électrons ou de donation d'atomes d'hydrogène. En outre, ils participent à la stimulation des systèmes de défense antioxydante endogènes, notamment par l'activation des enzymes superoxyde dismutase (SOD) et catalase (CAT). Ainsi, la combinaison des propriétés antioxydantes et antibactériennes de *Chlorella vulgaris* confère à cette microalgue un potentiel considérable pour des applications dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et biotechnologique (Mendes et *al.*, 2024).

### 2.3.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

#### 2.3.3.1. Méthode de diffusion sur disque

Cette méthode consiste à déposer une quantité et une concentration spécifiques d'extrait sur un disque placé dans une géloseensemencée avec une souche bactérienne. Après incubation, l'activité antimicrobienne est évaluée en mesurant la zone d'inhibition qui se forme autour de l'extrait. La taille de cette zone permet d'estimer l'activité du composé testé (Kassous et Salem, 2025).

### **2.3.3.2. Méthode de dilution en milieu liquide**

Cette méthode repose sur le principe de la dilution des extraits dans un milieu liquide afin d'évaluer leur activité antimicrobienne. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée par préparation de dilutions successives décroissantes de l'extrait ou de l'agent antimicrobien, suivie de l'inoculation d'une suspension bactérienne standardisée. Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, la CMI est définie comme la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance bactérienne visible. Cette méthode est largement utilisée pour l'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des composés naturels et des extraits biologiques (Balouiri et *al.*, 2025).

### **2.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) constitue un paramètre de référence largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits et des substances bioactives. Elle correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'inhiber totalement la croissance visible d'un microorganisme après une incubation de 18 à 24 heures. Parmi les techniques employées, la méthode de diffusion sur gélose est fréquemment utilisée en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de sa reproductibilité.

La détermination des valeurs de CMI est généralement réalisée par la méthode de microdilution en milieu liquide à l'aide de microplaques stériles de 96 puits. Ces microplaques sont organisées en 8 rangées (A à H) et 12 colonnes (1 à 12), permettant la préparation de dilutions successives précises des extraits testés ainsi que l'évaluation simultanée de plusieurs concentrations et souches bactériennes. Cette approche permet une détermination quantitative fiable de l'activité antibactérienne des composés étudiés (Zeraraka et Khelili, 2022).

### **2.6. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)**

La concentration bactéricide minimale (CMB) correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'entraîner la destruction d'au moins 99,9 % de la population bactérienne initiale après incubation, généralement à 37 °C pendant 18 à 24 heures (ou jusqu'à 48 heures selon le protocole). Elle est déterminée à partir des puits ou des cultures ne présentant pas de croissance visible lors du test de CMI, par repiquage sur milieu gélosé afin de vérifier l'absence de colonies viables. La CMB permet ainsi de distinguer l'effet bactériostatique de l'effet bactéricide des composés testés et constitue un indicateur essentiel pour l'évaluation de leur potentiel antimicrobien (Balouiri et *al.*, 2025).

## **Partie 2. Etude expérimentale**

## **Matériel et Méthodes**

### **1.Objectif de l'étude**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer les propriétés biologiques de l'extrait de *Chlorella Vulgaris* en mettant un accent particulier sur son potentiel antioxydant et antibactérien. Plus spécifiquement, cette recherche vise à déterminer la capacité de l'extrait à piéger et neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif, ainsi qu'à évaluer son efficacité inhibitrice vis-à-vis de différentes souches bactériennes.

Ces investigations permettront d'apprécier l'intérêt de *Chlorella vulgaris* comme source naturelle de composés bioactifs à potentiel thérapeutique et biotechnologique.

L'extraction des composés bioactifs de *Chlorella vulgaris* a été effectuée par extraction assistée par ultrasons (EAU), une technique reconnue pour son efficacité dans l'optimisation du rendement d'extraction tout en limitant la dégradation des molécules bioactives. Cette approche favorise la rupture des parois cellulaires et améliore le transfert de matière, permettant ainsi une récupération accrue des composés d'intérêt.

### **Présentation du lieu de travail**

L'ensemble des travaux expérimentaux réalisés dans le cadre de cette étude a été conduit au sein des laboratoires de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Les différentes analyses ont été effectuées dans les laboratoires de Microbiologie, de Biochimie Alimentaire et physiologie animale appliquée, en fonction des spécificités et des exigences méthodologiques propres à chaque étape expérimentale. Cette répartition a permis d'assurer la réalisation des essais dans des conditions adaptées aux objectifs de l'étude.

## **2. Matériel biologique**

### **2.1. Matériel végétal**

Les algues utilisées dans cette étude ont été achetées en février 2026 sous forme de poudre lyophilisée (Figure12) auprès d'un fournisseur algérien spécialisé dans la commercialisation de produits naturels. Selon les informations fournies par le distributeur, ces algues sont d'origine espagnole. Ces algues séchées ont été choisies pour leurs propriétés

nutritionnelles et leur haute qualité. Après leur achat, elles ont été conservées dans des conditions optimales.



**Figure 12.** La poudre de *Chlorella vulgaris* (Photo originale).

## 2.2. Microorganismes utilisés

Dans le cadre de cette étude, quatre souches bactériennes de référence, appartenant aux groupes des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, ont été retenues afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait étudié. Le choix de ces souches repose sur leur intérêt microbiologique et de leur disponibilité au sein du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de Mostaganem. Le tableau suivant (10) répertorie les différentes souches.

**Tableau 10.** Les souches bactériennes testées.

| Souches                       | Gram   |
|-------------------------------|--------|
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | Gram + |
| <i>Bacillus subtilis</i>      |        |
| <i>Escherichia coli</i>       | Gram - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |        |

### 3.L'extraction de *Chlorella vulgaris* par la technique ultrasons

L'extraction des composés bioactifs de la biomasse de *Chlorella vulgaris* a été réalisée selon la méthode décrite par (Plaza et *al.*, 2012 ; Agustini et *al.*, 2023). Un mélange d'eau distillée et d'éthanol a été préparé avec un rapport (1 :10 p/v).

L'échantillon a été extrait par sonication (40kHz) pendant 30 minutes dans un appareil à ultrasons de type (Elmasonic p), afin de rompre les parois cellulaires et d'améliorer le rendement d'extraction. Ce processus a été répété jusqu'à l'obtention d'un filtrat clair.

Après la sonication, l'échantillon a été centrifugé pendant 10 minutes à (4000 tr/min), et le surnageant a été séparé. Enfin le filtrat a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotative de type BUCHI R-210 à 30 C°, puis placé dans une étuve pendant quelques minutes à 25 C°, permettant ainsi l'obtention de l'extrait sec (Albi et ksnadi, 2020) (Figure 13).

Après sonication, l'extrait a été centrifugé afin de séparer le surnageant des résidus solides. Le surnageant récupéré a ensuite été concentré par évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif de type *BÜCHI R-210*, permettant ainsi l'obtention de l'extrait brut.



**Figure 13.** Les étapes d'extraction par la technique ultrasons (photo originale).

### 3.1. Détermination du rendement d'extraction

L'extrait hydroéthanolique récupéré après évaporation à sec et sous pression réduite a été pesé afin de déterminer la masse d'extrait sec récupérée. Le rendement d'extraction a été calculé par rapport à la masse initiale de la poudre utilisée (10g) et exprimé en pourcentage selon l'équation suivante (Azwanida et *al.*, 2023).

$$\text{Rendement (\%)} = (Me/Mp) \times 100$$

où :

Me : Masse de l'extrait sec obtenue après évaporation du solvant en gramme.

Mp : Masse de la poudre soumise à l'extraction en gramme.

## 4. Techniques analytiques

### 4.1. Criblage photochimique des composés bioactifs

Le criblage phytochimique de l'extrait a été effectué selon des méthodes qualitatives basées sur des réactions chimiques spécifiques permettant l'identification préliminaire des principaux métabolites secondaires. Les tests réalisés visaient à détecter la présence des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes, des tanins, des saponines ainsi que des sucres réducteurs. La mise en évidence de ces composés repose sur l'observation de changements de couleur, de la formation de précipités ou de mousse caractéristique après l'ajout de réactifs appropriés, fournissant ainsi des informations sur la composition chimique de l'extrait étudié.

- **Recherche des phénols**

D'après la méthode décrite par Michel et *al.* (2017), la recherche des composés phénoliques a été effectuée par réaction au chlorure ferrique. À cet effet, quatre gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  ont été ajoutées à l'extrait. Le développement d'une coloration noir bleuté caractéristique a été interprété comme révélateur de la présence de composés phénoliques.

- **Recherche des flavonoïdes**

La détection qualitative des flavonoïdes a été réalisée par le test à l'hydroxyde de sodium. À cet effet, 1 ml de l'extrait de *Chlorella vulgaris* a été mélangé à 1 ml d'une solution de NaOH (2N). La formation d'une coloration jaune caractéristique ou d'un précipité jaune a été interprétée comme révélatrice de la présence de flavonoïdes dans l'échantillon étudié (Makhlof, 2024).

- **Recherche des tanins**

Selon Rajeundran et *al.* (2014), la recherche qualitative des tanins a été réalisée en ajoutant 70  $\mu\text{l}$  de l'extrait à 5 ml d'eau distillée, suivis de quelques gouttes d'une solution de

chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1 %. L'apparition d'une coloration vert noirâtre a été considérée comme un résultat positif, indiquant la présence de tanins dans l'échantillon analysé.

- **Recherche des saponines**

La recherche des saponines a été réalisée en mélangeant 5 ml de l'extrait avec 5 ml d'eau distillée dans un tube à essai. Le mélange a ensuite été agité vigoureusement puis légèrement chauffé. La formation d'une mousse persistante et stable après agitation a été considérée comme un résultat positif, indiquant la présence de saponines dans l'extrait analysé (Abdel-Karim et *al.*, 2020).

- **Recherche des sucres réducteurs**

Conformément à la méthode proposée rapportée par Sawant et Godghate (2013), la détection des sucres réducteurs a été effectuée après hydrolyse acide de 2 ml d'extrait hydroéthanolique à l'aide d'HCl dilué. La solution hydrolysée a ensuite été neutralisée par addition d'une solution alcaline, puis chauffée en présence des réactifs de Fehling A et B. La formation d'un précipité rouge brique caractéristique a été interprétée comme révélatrice de la présence de sucres réducteurs dans l'échantillon étudié.

## **4.2. Analyse quantitative**

### **4.2.1. Dosage des polyphénols totaux**

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée selon la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, telle que décrite par Mujic et *al.* (2009). À cet effet, 0,5 ml de chaque extrait ont été mélangés à 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué au dixième avec de l'eau distillée, puis à 1 ml d'une solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 20 %. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a ensuite été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (JENWAY UV-7205). La concentration totale en composés phénoliques a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

Le dosage repose sur la capacité des composés phénoliques à réduire les complexes phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) et phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) contenus dans le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette réaction d'oxydoréduction conduit à la formation d'un complexe chromogène de couleur bleu intense, dont l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie. L'intensité de la coloration obtenue est directement proportionnelle à la concentration des composés phénoliques présents dans l'échantillon analysé.

Pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, une solution mère d'acide gallique a été préparée dans l'éthanol. Des dilutions successives de cette solution ont ensuite été réalisées afin

d'obtenir une gamme de concentrations de 25, 50, 150, 200, 250 et 500 mg/l. Chaque solution étalon a été soumise aux mêmes conditions expérimentales que les échantillons, puis son absorbance a été mesurée à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en utilisant l'éthanol comme solution témoin (blanc). Les valeurs d'absorbance obtenues ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, utilisée pour la quantification des composés phénoliques totaux dans les extraits analysés.

Concernant l'échantillon à analyser :

- Une quantité d'extrait a été mélangée à 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu ;
- Le mélange a été homogénéisé puis incubé pendant 10 minutes à température ambiante ;
- Ensuite, 4 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5 % (préparé dans l'éthanol) ont été ajoutés ;
- La solution finale a été vigoureusement agitée, puis incubée dans l'obscurité pendant 2 heures à température ambiante ;
- Enfin, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm.

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de *Chlorella vulgaris*

$$\text{TPT} = \text{C.V/M}$$

Avec :

**TPT** : Teneur en polyphénols totaux

- ✓ C : Concentration d'acide gallique ( $\mu\text{g/ml}$ ).
- ✓ V : volume d'extrait (ml).
- ✓ M : masse de l'extrait (g).

Les tests ont été répétés trois fois pour garantir la fiabilité des résultats.

#### 4.2.2. Dosage des flavonoïdes

Selon la méthode décrite par Djeridane et *al.* (2006), la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait a été déterminée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Cette approche repose sur la formation d'un complexe stable de coloration jaune entre l' $\text{AlCl}_3$  et les groupements hydroxyles des flavonoïdes, présentant une absorbance maximale mesurée à 430 nm.

Pour établir la courbe d'étalonnage, une solution mère de quercétine a été préparée dans l'éthanol, puis diluée successivement (1/20, 1/40, 1/50, 1/100) afin d'obtenir des solutions filles de concentrations variées. L'absorbance de chaque solution étalon a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant l'éthanol comme blanc. Ces données ont permis de tracer la courbe d'étalonnage nécessaire à la quantification.

Concernant l'échantillon de *Chlorella vulgaris*., le mélange a été agité vigoureusement puis incubé pendant 10 minutes avant la lecture de l'absorbance à 430 nm. La teneur en flavonoïdes totaux a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine et exprimée en milligrammes équivalents de quercétine par gramme d'extrait.

$$\text{TFT} = \text{C.V} / \text{M}$$

Avec :

**TFT** : Teneur en flavonoïdes totaux

✓ C : Concentration en Quercétine (µg/ml).

✓ V : volume d'extrait (ml).

✓ M : masse d'extrait (g).

Chaque essai a été effectué en triplicata afin d'assurer la fiabilité et la reproductibilité des résultats obtenus.

#### 4.2.3. Dosage des tanins

La teneur en tanins condensés des extraits de *Chlorella vulgaris* a été déterminée par la méthode colorimétrique à la vanilline en milieu acide, conformément au protocole décrit par Schofield et *al.* (2001). Le principe de cette méthode repose sur la condensation de la vanilline avec le carbone 6 du cycle A de la catéchine en milieu fortement acide, conduisant à la formation d'un complexe chromophore de coloration rouge. L'intensité de cette coloration, mesurée à 500 nm, est proportionnelle à la teneur en tanins condensés (Schofield et *al.*, 2001 ; Mahmoudie et *al.*, 2013).

Pour l'analyse, 400 µl d'extrait éthanolique (90 %) ont été mélangés à 3 ml de solution de vanilline à 4 % (m/v) préparée dans l'éthanol, puis à 5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 15 minutes, puis l'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, en utilisant un blanc approprié.

Les concentrations en tanins ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine et exprimées en microgrammes équivalents catéchine par gramme d'extrait (µg EC/g).

Chaque essai a été réalisé en triplicata afin de garantir la fiabilité des résultats obtenus.

#### 4.2.4. Détermination de l'activité antioxydante

##### 4.2.4.1. Activité antiradicalaire DPPH

Le radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est largement utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante grâce à sa stabilité et à sa simplicité d'utilisation. Selon Brand-Williams et *al.* (1995), cette méthode repose sur la capacité des composés antioxydants à réduire le radical DPPH par transfert d'un électron ou d'un atome d'hydrogène. Le DPPH présente une couleur violette intense caractérisée par une forte absorbance autour de 517 nm.

Par la suite, Bougandoura et Bendimerad (2013) ont utilisé cette méthode pour évaluer le potentiel antioxydant d'extraits naturels en mesurant la diminution de l'absorbance du DPPH après réaction avec les composés antioxydants. Ensuite, Lakshmi et *al.* (2014) ont montré que la réduction du DPPH provoque un changement de couleur du violet vers le jaune, reflétant l'activité antiradicalaire des extraits analysés.

De plus, Dieng et *al.* (2015) ont décrit la préparation de la solution mère de DPPH dans l'éthanol ainsi que l'établissement d'une gamme d'étalonnage pour les mesures spectrophotométriques. Enfin, Bui Thanh et *al.* (2016) ont confirmé que la stabilité du DPPH est liée à la présence d'un électron célibataire responsable de sa coloration violette caractéristique.

L'acide ascorbique est généralement utilisé comme contrôle positif dans cette méthode. L'activité antioxydante des extraits est déterminée par la mesure spectrophotométrique de la diminution de l'absorbance après réaction avec le radical DPPH.

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, 50 µl de chaque extrait éthanolique, préparé à différentes concentrations (10, 40, 80 et 100 µg/ml), ont été ajoutés à 1,95 ml de solution éthanolique de DPPH. En parallèle, un contrôle négatif a été réalisé dans les mêmes conditions expérimentales en remplaçant l'extrait par 50 µl d'éthanol, mélangé à 1,95 ml de solution de DPPH.

Les mélanges ont été incubés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc spécifique a été préparé pour chaque concentration afin d'assurer la précision des mesures.

L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence (contrôle positif) et soumis aux mêmes conditions expérimentales que les extraits. Une courbe d'étalonnage a été réalisée à partir de solutions standards d'acide ascorbique (10, 40, 80 et 100 µg/ml), en suivant le même protocole expérimental.

Les résultats obtenus pour les extraits ont été exprimés en milligrammes d'équivalents acide ascorbique par gramme de matière végétale fraîche (mg EAA/g MVF). Chaque test a été répété trois fois afin de garantir la reproductibilité et la fiabilité des données.

#### **Expression des résultats**

La capacité de piégeage du radical libre est calculée à travers le pourcentage d'inhibition :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition} = ((\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

✓ **Abs contrôle** : Absorbance de la solution DPPH.

✓ **Abs test** : Absorbance de l'extrait.

#### **Calcul des concentrations IC<sub>50</sub>**

Pour chaque extrait, la valeur de l'IC<sub>50</sub> a été déterminée. Elle correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH. Cette valeur a été obtenue à partir de l'équation de la droite de régression issue de la courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations testées, aussi bien pour les extraits que pour le standard de référence utilisé dans l'étude (Bencheikh, 2017).

### **4.3. Détermination de l'activité antibactérienne**

Pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de *Chlorella vulgaris*, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur milieu gélosé, pour déterminer l'effet inhibiteur d'un extrait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque (Fassi Fihri et al., 2024).

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion de l'extrait à partir d'un disque placé sur la surface d'un milieu de culture solide préalablementensemencé avec la souche bactérienne à tester. L'extrait diffuse radialement dans la gélose, créant un gradient de concentration. La présence d'une activité antibactérienne se manifeste par l'inhibition de la croissance bactérienne dans la zone environnante, et formant un halo clair autour du disque, la mesure du diamètre de ce halo permet d'évaluer quantitativement la sensibilité de la souche vis-à-vis de l'extrait testé (Rachana et Venugopalan, 2014).

#### **Préparation des dilutions de l'extrait**

L'extrait de *Chlorella vulgaris* a été dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) afin de préparer deux concentrations : 200 mg /ml et 400 mg /ml.

#### **Préparation de la suspension bactérienne**

Les micro-organismes utilisés sont repiqués sur milieu GN (Gélose Nutritive) par la méthode de striée puis incubés à 37°C pendant 24H, cette étape est cruciale pour obtenir des

colonies jeunes actives et bien isolées (en phase exponentielle de croissance). A partir de ces boîtes et à l'aide d'une ose quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées et mises dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % de NaCl. La suspension bactérienne a été bien homogénéisée correspond à une absorption à 600 nm de densité optique D. O= [0,08 – 0,1]. Il est équivalent à  $10^8$  CFU/ml (Hamouda Ali, 2019).

#### **4.3.1. Méthode de diffusion sur disque**

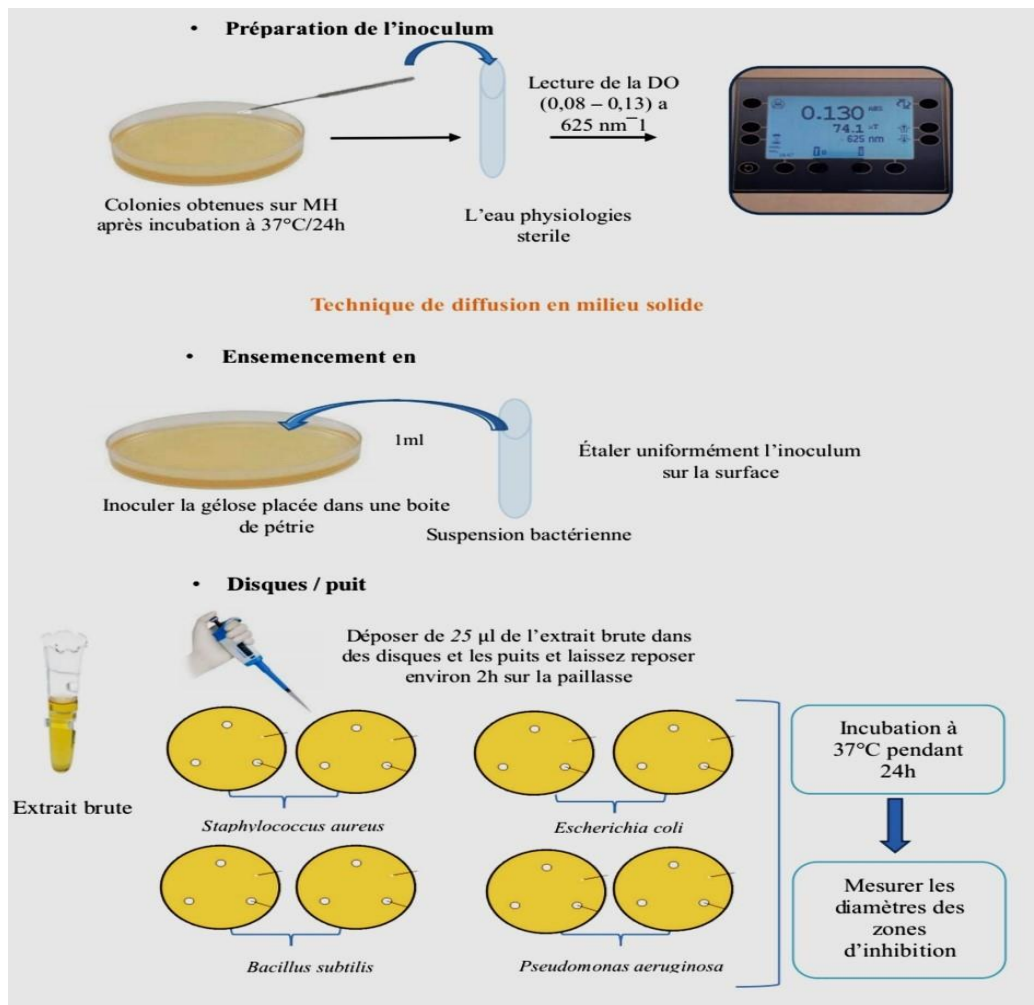
L'activité antimicrobienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques (figure 14). Des disques de papier stériles d'environ 6 mm de diamètre ont été déposés sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture Mueller-Hinton (MH), préalablement ensemencé avec les micro-organismes testés. Chaque disque a été imprégné de 10 µl d'extrait. Les boîtes ont ensuite été incubées à 30 °C pendant 24 heures dans une étuve.

L'activité antimicrobienne a été déterminée par la mesure des zones d'inhibition correspondant aux halos de croissance observés autour des disques. Le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif (10 µl), tandis que des antibiotiques de référence, à savoir la ciprofloxacine, l'oxacilline, la gentamicine et la vancomycine, ont été employés comme contrôles positifs (Attal et *al.*, 2023).

Afin d'interpréter les résultats de manière standardisée, une classification qualitative de la sensibilité des souches bactériennes a été adoptée, selon les critères proposés par Djendi et *al.* (2023).

Ainsi, une souche est considérée comme :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ;
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 14 à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20 mm



**Figure 14.** Les étapes de la méthode de diffusion sur disques (photo originale).

## **Résultats et discussion**

## 1. Rendement de l'extrait brut

Les composés phénoliques de la poudre de l'algue *Chlorella vulgaris* ont été extraits par extraction assistée par ultrasons en utilisant une solution hydroéthanolique composée de 90 % d'éthanol. Le rendement d'extraction de l'extrait hydroéthanolique a été déterminé en pourcentage par rapport à la masse initiale de poudre sèche utilisée (10 g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 11.

**Tableau 11.** Rendement de l'extrait de *Chlorella vulgaris*.

| Type de l'extrait | Rendement % |
|-------------------|-------------|
| hydroéthanolique  | 11,7 %      |

L'extraction des composés phénoliques de *Chlorella vulgaris* par la technique assistée par ultrasons a permis d'obtenir un rendement massique de 11,7 %. Cette valeur est supérieure à celles rapportées dans plusieurs études antérieures, les rendements d'extraction étant fortement influencés par les conditions expérimentales mises en œuvre. À titre d'exemple, Agustini et al. (2023) ont obtenu un rendement de 6,93 % en utilisant également une extraction assistée par ultrasons.

L'efficacité de cette méthode d'extraction peut être améliorée par l'optimisation de différents paramètres opératoires, notamment la concentration du solvant, les caractéristiques de la matière première, le rapport solide/liquide ainsi que la durée d'extraction (Georgiopoulou et al., 2022). Ces facteurs influencent directement la diffusion des composés bioactifs et leur transfert du matériau végétal vers le milieu extracteur.

## 2. Criblage phytochimique des composés bioactifs (Analyse qualitative)

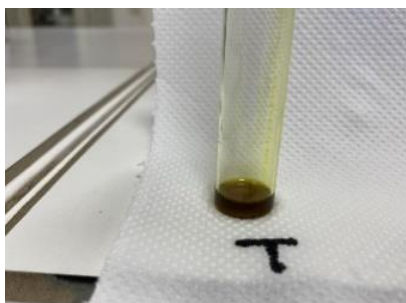
L'étude phytochimique préliminaire de l'extrait hydroéthanolique de *Chlorella vulgaris* a été réalisée afin d'identifier les principaux métabolites secondaires présents dans cette microalgue. Les analyses qualitatives ont mis en évidence la présence de plusieurs groupes de composés bioactifs, notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les terpénoïdes et absence des sucres réducteurs. Les résultats obtenus pour chacun de ces groupes chimiques détectés dans l'extrait sont illustrés dans la figure 15 et le tableau 12.



**Phénols**



**Flavonoïdes**



**Tanins**



**Sucres réducteurs**



**Saponines**

**Figure 15.** Résultats du criblage phytochimique de l'extrait hydroéthanolique de *Chlorella vulgaris* (photo originale).

Le criblage phytochimique préliminaire de l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* a révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires.

**Tableau 12.** Résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait de *Chlorella vulgaris*.

| Métabolites      | Extrait hydroéthanolique |
|------------------|--------------------------|
| Phénols          | +                        |
| Flavonoïdes      | +                        |
| Tanins           | +                        |
| Sucre réducteurs | -                        |
| Saponines        | +                        |

Présence : +, Absence : -

Les analyses phytochimiques qualitatives ont révélé la présence de plusieurs classes de métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques, les tanins, les flavonoïdes et les saponines. En revanche, aucun résultat positif n'a été observé pour certains groupes de composés, tels que les sucres réducteurs.

Les résultats obtenus sont cohérents avec ceux rapportés dans la littérature. En effet, plusieurs études, notamment celles d'Abdel-Karim et *al.* (2020), de Cichonski et Chrzanowski (2022) et de Mendes et *al.* (2024), ont également mis en évidence la présence de tanins, de composés phénoliques, de flavonoïdes et de terpénoïdes dans les extraits de *Chlorella vulgaris*.

Concernant les tanins, les résultats du criblage phytochimique ont confirmé leur présence dans l'extrait hydroéthanolique de *Chlorella vulgaris*. Toutefois, la faible intensité de la réaction observée suggère que ces composés sont présents en faible quantité. Nos résultats concordent avec les résultats de Fassi Fihri et *al.* (2024), qui ont également rapporté la présence de tanins à de faibles concentrations dans les extraits de cette microalgue.

### 3. Analyse quantitative

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins a été réalisé sur l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris*. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 13.

**Tableau 13.** Teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins de l'extrait hydroéthanoliques de *Chlorella vulgaris*.

| Composés bioactifs        | Extrait |
|---------------------------|---------|
| Polyphénols (mg EAG/g ES) | 06 ,69  |
| Flavonoïdes (mg EQ/g ES)  | 26 ,33  |
| Tanins (mg EC/g ES)       | 24,90   |

#### 3.1. Teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 06), selon l'équation de régression suivante :

$$y = 0 ,0015x + 0,0188$$

Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES) (Tableau 14).

Les résultats du dosage quantitatif des polyphénols totaux dans l'extrait de *Chlorella vulgaris* ont révélé une teneur de 06,69 mg EAG/g d'extrait sec. Cette valeur est cohérente avec celles rapportées par Fassi Fihri et *al.* (2024), qui ont observé des teneurs comprises entre 4,64 et 9,05 mg EAG/g ES, en fonction des conditions de culture et des méthodes d'extraction utilisées. En revanche, Abdel-Moatamed et *al.* (2024) ont rapporté une teneur significativement plus élevée, atteignant 127,7 mg EAG/g ES.

Cette variabilité peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la souche de microalgue, les conditions de croissance, la nature du solvant d'extraction, la technique d'extraction ainsi que les méthodes analytiques employées. Ces paramètres influencent fortement l'accumulation et l'extractibilité des composés phénoliques chez *Chlorella vulgaris*.

Ces observations sont également confirmées par des travaux récents, qui soulignent que les conditions de culture et les procédés d'extraction modulent significativement la teneur en composés phénoliques des microalgues (Bermúdez et *al.*, 2024).

### 3.2. Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (Annexe 06), selon l'équation de régression suivante :

$$y = 0,0035x - 0,0023$$

Les résultats ont été exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg) (Tableau 14).

L'extrait de *Chlorella vulgaris* a présenté une teneur totale en flavonoïdes de 26,33 mg QE/g ES. Cette valeur est supérieure à celle rapportée par Cheban et Kozak (2022), qui ont obtenu une teneur de 03,87 mg QE/g ES. Toutefois, elle reste inférieure aux valeurs rapportées par Abdel-Moatamed et *al.* (2024) et Fassi Fihri et *al.* (2024), qui ont enregistré respectivement 51,3 mg QE/g ES et des teneurs comprises entre 64,74 et 180,63 mg QE/g ES. Ces différences peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment les conditions de culture de la microalgue, le stade de récolte, le type de solvant utilisé ainsi que les méthodes d'extraction appliquées. En particulier, l'utilisation de techniques d'extraction avancées et de solvants eutectiques profonds (DES) peut améliorer significativement le rendement d'extraction des composés flavonoïdiques (Abdel-Moatamed et *al.*, 2024).

### 3.3. Teneur en tanins

La teneur en tanins de l'extrait a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (Annexe 06), selon l'équation de régression suivante :

$$y = 0,0025x + 0,0003.$$

Les résultats ont été exprimés en microgrammes équivalents de catéchine par milligramme d'extrait (mg EC/mg d'extrait). Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 13.

La teneur en tanins de l'extrait étudié a atteint 24,90 mg EC/g ES d'extrait, une valeur supérieure à celles rapportées par Fassi Fihri et *al.* (2024) pour des extraits de *Chlorella*

*vulgaris*, où les teneurs variaient entre 4,07 et 12,30 mg EC/g ES. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la souche algale utilisée, les conditions de culture, la nature du solvant ainsi que la méthode d'extraction appliquée, ces paramètres influençant directement l'efficacité d'extraction des composés phénoliques. Ainsi, les résultats obtenus suggèrent une meilleure efficacité de la méthode d'extraction employée dans notre étude, conduisant à une teneur plus élevée en tanins par rapport à celle rapportée dans la littérature par Fassi Fihri et *al.* (2024).

#### 4. Activité antioxydante

##### 4.1. Activité antiradicalaire DPPH

Afin d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait obtenu, le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été utilisé. Cette méthode est basée sur la capacité des composés antioxydants à réduire le radical DPPH, entraînant ainsi un changement de coloration du violet au jaune, mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique (Lakshmi et *al.*, 2014).

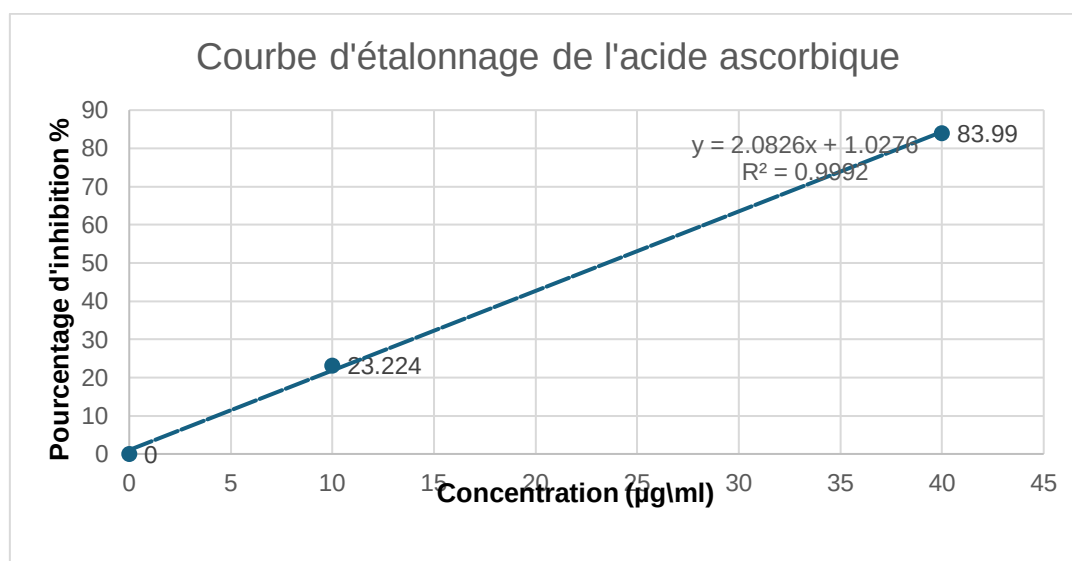
Les résultats obtenus ont révélé un pouvoir antioxydant significatif, avec une concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>) relativement faible, estimée à 300,50 µg/ml (Tableau 14).

**Tableau 14.** Activité antioxydante de l'extrait de *Chlorella vulgaris*.

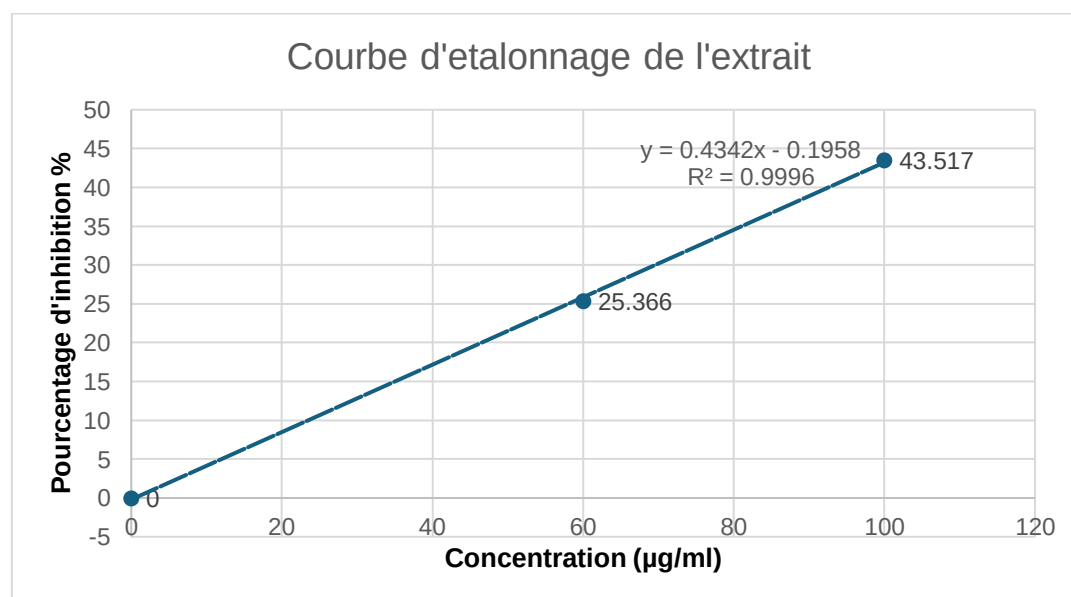
| Antioxydants                       | Concentrations µg/ml |
|------------------------------------|----------------------|
| IC 50 de l'acide ascorbique        | 24.12                |
| IC50 de l'extrait éthanolique DPPH | 300,50               |

Ces résultats indiquent une activité antioxydante relativement faible de l'extrait de *Chlorella vulgaris* étudié (Figure 16 et 17). Cette observation est cohérente avec celle de Dantas et *al.* (2015), qui ont rapporté une valeur d'IC<sub>50</sub> de 628 µg/ml pour un extrait obtenu à l'éthanol, traduisant également une faible capacité antioxydante comparable aux résultats de notre étude. Cette activité limitée peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la nature du solvant utilisé, les conditions d'extraction ainsi que la variabilité des souches d'algues et de leur composition biochimique.

Cette valeur est comparable à celles rapportées dans la littérature récente pour des extraits de *Chlorella vulgaris* obtenus par différentes techniques d'extraction. En effet, Georgiopoulou et *al.* (2022) ont rapporté une IC<sub>50</sub> de 118,24 µg/ml pour un extrait méthanolique, tandis que des valeurs supérieures, atteignant environ 280–300 µg/ml, ont été observées dans des conditions d'extraction moins optimisées ou avec des solvants hydroéthanoliques (Putri et *al.*, 2021). Ces variations confirment que l'activité antioxydante de *Chlorella vulgaris* dépend fortement des conditions d'extraction, du solvant utilisé et de la composition bioactive de l'extrait.



**Figure 16.** La courbe d'étalonnage de taux d'inhibition de l'acide ascorbique.



**Figure 17.** La courbe d'étalonnage de l'extrait *Chlorella vulgaris*.

## 5. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait hydroéthanolique de *Chlorella vulgaris* vis-à-vis de différents microorganismes pathogènes est résumée dans le tableau 15.

**Tableau 15.** Résultats de l'activité antibactérienne du l'extrait hydroéthanolique de *Chlorella vulgaris*

| Les souches                   | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) |                |     |
|-------------------------------|---------------------------------------|----------------|-----|
|                               | L'extrait éthanolique                 | L'antibiotique |     |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | -                                     | Oxacilline     | -   |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | -                                     | Vancomycine    | 2,5 |
| <i>Escherichia coli</i>       | -                                     | CIP            | 3,1 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | -                                     | Gentamicine    | 2,2 |

L'extrait de *Chlorella vulgaris* n'a révélé aucune activité antibactérienne contre les souches à Gram-négatif et à Gram-positif testées (Tableau 16).

**Tableau 16.** Sensibilité des bactéries pathogènes contre l'extrait éthanolique du *Chorella vulgaris*

| Bactéries   | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
|-------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Sensibilité | -                            | -                        | -                       | -                             |

Présence : +, Absence : -

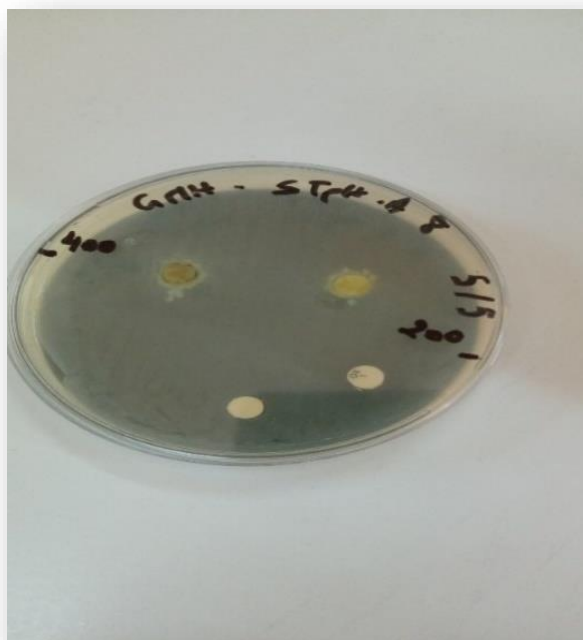
Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* ont révélé une absence totale de zone d'inhibition vis-à-vis de l'ensemble des souches bactériennes testées : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et *Bacillus subtilis* (Figure 18, 19, 20 et 21).

Ces résultats sont cohérents avec ceux de Farhi et al. (2024), l'efficacité antimicrobienne des extraits de Microalgues dépend de manière critique de la sélection du solvant d'extraction.

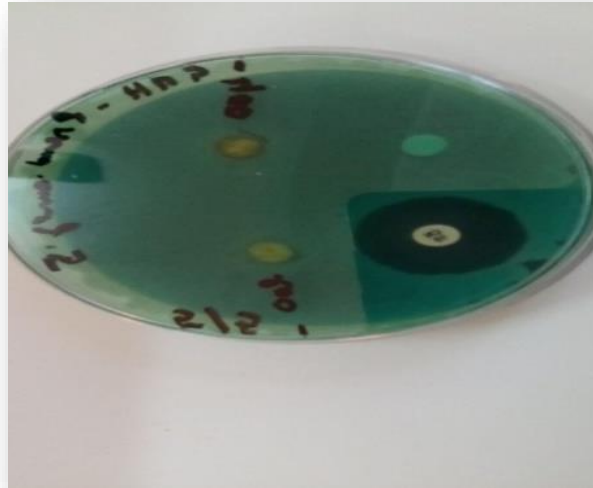
Dans leur travail, les extraits obtenus avec des solvants organiques conventionnels (COVs) ont montré des capacités d'extraction nettement inférieures à celles des solvants eutectiques profonds (DES).

Les extraits conventionnels de *Chlorella vulgaris* nécessitent des concentrations minimales inhibitrices (CMI) très élevées (allant de 0.25 à 1 mg/ml) pour induire un effet visible sur les germes pathogènes. Par conséquent, l'absence de sensibilité bactérienne observée dans notre étude confirme que le rendement en molécules actives de notre extrait brut n'a pas atteint le seuil de concentration critique requis pour inhiber la croissance bactérienne, contrairement aux solvants innovants (DES) qui agissent en synergie avec les composés solubles pour détruire la membrane cellulaire bactérienne.

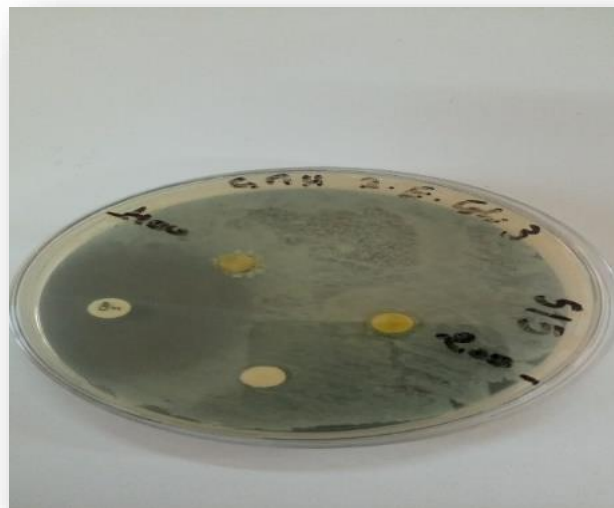
Bien que les résultats issus des différentes études montrent une variabilité de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Chlorella vulgaris*, cette variabilité peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la méthode employée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne, la nature de solvant utilisée, concentration de l'extrait utilisé, la quantité d'extrait déposée sur les disques, ainsi que l'origine de matière première Nam et *al.* (2015).



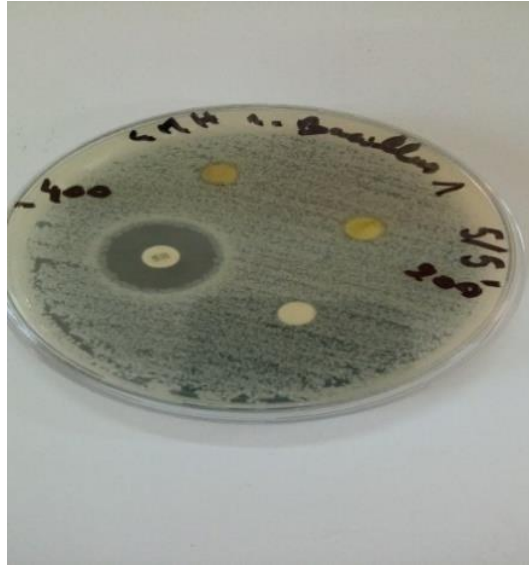
**Figure 18.** La zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* en présence de l'antibiotique.



**Figure 19.** La zone d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* en présence de l'antibiotique.



**Figure 20.** La zone d'inhibition d'*Escherichia coli* en présence de l'antibiotique.



**Figure 21.** La zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* en présence de l'antibiotique.

# **Conclusion**

## Conclusion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer les propriétés biologiques de l'extrait de *Chlorella vulgaris* obtenu par extraction assistée par ultrasons à l'éthanol à 90 %. Cette méthode d'extraction a été retenue pour sa capacité à favoriser la rupture de la paroi cellulaire de *C. vulgaris*, améliorant ainsi la libération et la récupération des composés bioactifs. Le procédé a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 11,7 %. Les investigations ont porté principalement sur la caractérisation des activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait obtenu.

L'analyse phytochimique de l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* a mis en évidence la présence de plusieurs métabolites secondaires bioactifs, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins et les saponines, tandis que les sucres réducteurs n'ont pas été détectés. L'évaluation quantitative a révélé des teneurs de 6,69 mg EAG/g d'extrait sec pour les polyphénols totaux, de 26,33 mg EQ/g d'extrait sec pour les flavonoïdes et de 24,90 mg EC/g d'extrait sec pour les tanins condensés.

Ces métabolites secondaires sont largement reconnus pour leurs multiples propriétés biologiques, en particulier leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes. Cependant, malgré la présence de ces composés bioactifs, l'extrait de *Chlorella vulgaris* a montré une activité antioxydante relativement faible. En effet, l'évaluation de son pouvoir antioxydant a révélé une valeur d'IC<sub>50</sub> de 300,50 µg/ml, traduisant une capacité modérée à neutraliser les radicaux libres. Cette faible activité pourrait être attribuée à la nature des composés phénoliques présents, à leur concentration relativement limitée ou encore à leur biodisponibilité au sein de l'extrait.

Aucune activité antibactérienne n'a été mise en évidence vis-à-vis des souches pathogènes testées, à savoir *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Ces résultats indiquent que l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* présente un potentiel limité en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant naturel dans les conditions expérimentales adoptées.

Cette faible activité biologique pourrait être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la souche et l'origine de *Chlorella vulgaris* utilisée, les conditions de culture, la méthode d'extraction appliquée ainsi que la nature du solvant employé. En effet, ces paramètres sont connus pour influencer significativement la composition phytochimique des extraits, la teneur en composés bioactifs et, par conséquent, les activités biologiques observées.

Bien que l'extrait éthanolique de *Chlorella vulgaris* évalué dans cette étude n'ait révélé qu'une faible activité antioxydante et aucune activité antibactérienne significative, ces observations diffèrent de plusieurs résultats rapportés dans la littérature. Cette variabilité pourrait être principalement liée aux caractéristiques de la matière première utilisée (souche, origine, conditions de culture et de récolte), ainsi qu'au choix du solvant et de la méthode d'extraction, facteurs reconnus pour influencer la composition chimique des extraits et par conséquent, leurs propriétés biologiques.

En conclusion, *Chlorella vulgaris* constitue une source naturelle potentielle de composés bioactifs pouvant présenter un intérêt dans les domaines de la santé, de la nutrition et de l'industrie agroalimentaire. Toutefois, l'expression de ses propriétés biologiques dépend fortement de facteurs tels que l'origine de la biomasse, les conditions de culture et les méthodes d'extraction utilisées. Les résultats obtenus constituent une base pour de futures recherches visant à optimiser les procédés d'extraction et à mieux caractériser les composés bioactifs de cette microalgue afin d'en améliorer la valorisation industrielle et à la durabilité des systèmes de production.

## **Références Bibliographiques**

## A

- **Azwanida, N. N., Sulaiman, S. F., Nor, N. M., Aina, M. A. (2023).** Recent advances in extraction techniques and evaluation of extraction yield of bioactive compounds from medicinal plants. *Molecules*, 28(15), 5678. <https://doi.org/10.3390/molecules28155678>
- **Albi, V. N., & Kusnadi, J. (2020).** Applications Microalgae *Chlorella vulgaris* extract as an Antimicrobial on Edible film of Corn Starch (Study on Concentration of *Chlorella vulgaris* Extract and Corn Starch). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 21(2), 117-128.
- **Attal, F.-S. (2023).** Extraction des composés bioactifs de *Chlorella sp* par Ultrasons et Champ électrique pulsé [Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach].
- **Abdel-Karim, O. H., Gheda, S. F., Ismail, G. A., & Abo-Shady, A. M. (2020).** Phytochemical screening and antioxidant activity of *Chlorella vulgaris*. *Delta Journal of Science*, 41(1), 81–91.
- **Abdel-Moatamed, B. R., El-Fakhrany, A. M. A., Elneairy, N. A. A., Shaban, M. M., & Roby, M. H. H. (2024).** The impact of *Chlorella vulgaris* fortification on the nutritional composition and quality characteristics of beef burgers. *Foods*, 13(12), 1945. <https://doi.org/10.3390/foods13121945>

## B

- **Bito, T., Okumura, E., Fujishima, M., Watanabe, F. (2020).** Potential of *Chlorella* as a dietary supplement to promote human health. *Nutrients*, 12(9), 2524. <https://doi.org/10.3390/nu12092524>
- **Badrunanto, A., Purba, L. D. A., Wikantyasning, E. R., Maryati, Prayitno, J., Hidhayati, N., Agustini, N. W. S., Munawaroh, H. S. H., Susanti, H., Kusumawaty, D., Rahman, D. Y., Apriastini, M., Prasetyadi, & Admirasari, R. (2025).** *Chlorella sp.* as a promising natural antioxidant source: Research trends, bioactive components, and future perspectives. *Algal Research*, 92, 104341. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104341>
- **Bencheikh, D. (2017).** Hypoglycemic medicinal plants used in Setif region and their effects on experimentally-induced diabetes in rats (Thèse de doctorat, Université de Sétif, Algérie).
- **Balouiri, M., Sadiki, M., Ibensouda, S. K. (2025).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: Recent advances and applications. *Journal of Advanced Microbiological Research*, 18(2), 115–129. <https://doi.org/10.1016/j.jamr.2025.02.004>
- **Boual, Z., Guehaz, K., & Beddiaf, F. (2021).** Extraction des polysaccharides de *Chlorella vulgaris* isolée du Sahara algérien et évaluation de leur activité antihyperglycémiant. Université Kasdi Merbah Ouargla.

- **Bermúdez, G., Terenzi, C., Medri, F., Andrisano, V., Montanari, S. (2024).** Extraction and analytical methods for the characterization of polyphenols in marine microalgae: A review. *Marine Drugs*, 22(12), 538. <https://doi.org/10.3390/md22120538>
- **Bouacem, K. (2024).** Biotechnologie des microalgues [Polycopié de cours]. Département de Biochimie-Microbiologie, Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.
- **Benamor Ben Ayed H, (2015).** Etude et optimisation de la bioaccumulation de Magnésium dans les microalgues « *Chlorella vulgaris* ». Diplôme de doctorat, Université Paris-Saclay, France, et Université de Sfax, Tunisie, p.p. 21.
- **Badrunanto, Purba, L. D. A., Wikantyasning, E. R., Maryati, Prayitno, J., Hidhayati, N., Agustini, N. W. S., Munawaroh, H. S. H., Susanti, H., Kusumawaty, D., Rahman, D. Y., Apriastini, M., Prasetyadi, & Admirasari, R. (2025).** *Chlorella* sp. as a promising natural antioxidant source: Research trends, bioactive components, and future perspectives. *Algal Research*, 92, 104341 <https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104341>
- **Baraiya, K. G. (2024).** Bioactive compounds from micro-algae and its application in foods: A review. *Discover Food*, 4, 96. <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00096-6>

## C

- **Chemat, F. ; Rombaut, N. ; Sicaire, A.G. ; Meullemiestre, A. Fabiano-Tixier, A.S.; Abert-Vian, M. (2017).** Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason. Sonochem.*, 34, 540–560. *Chemosphere*, p.p. 1244-55. NCBI. National Center for biotechnology information: *chlorella vulgaris*.
- **Cheban, L. M., & Kozak, A.-M. R. (2022).** Phenolic compounds of *Chlorella vulgaris* as antimicrobial agents. *Biological Systems*, 14(2), 106–111. <https://doi.org/10.31861/biosystems2022.02.106>

## D

- **Djendi, M. L., Benzaid, C., Bouguerra, K., Djebien, M. (2023).** Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la lavande (*lavandula stoechas*). *Revue des Sciences et Technologies, Synthèse*, 29(1), 1–5.

## E

- **Eladl, S. N., Elnabawy, A. M., & Eltanahy, E. G. (2024).** Recent biotechnological applications of value-added bioactive compounds from microalgae and seaweeds. *Botanical Studies*, 65, 28. <https://doi.org/10.1186/s40529-024-00434-y>

## F

- **Fassi Fihri, R., Ez-Zoubi, A., Mbarkiou, L., Amar, A., Farah, A., Bouchamma, E. O. (2024).** Antibacterial and antioxidant activities of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus incrassatulus* using natural deep eutectic solvent under microwave assisted by ultrasound. *Heliyon*, 10(15), e35071. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35071>
- **Furbeyre, H. (2017).** Effets d'une supplémentation en Spiruline et en Chlorelle sur la croissance et la santé digestive du porcelet au sevrage (Thèse de doctorat, Agrocampus Ouest). HAL Open Science. <https://theses.hal.science/tel-01661454>

## G

- **Global Biodiversity Information Facility (GBIF). (2026).** *Chlorella vulgaris* – Occurrence data. <https://www.gbif.org/species/5270961>
- **Georgiopoulou, I., Tzima, S., Louli, V., & Magoulas, K. (2022).** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of high-added value compounds from *Chlorella vulgaris*: Experimental design, modelling and optimization. *Molecules*, 27(18), 5884. <https://doi.org/10.3390/molecules27185884>
- **Gamal, B. N., Hamed, A. A., Elawady, M. E., Battah, G., & Hassan, M. G. (2024).** Bioactivity assessment of *Chlorella* algae as antioxidant potential. *Benha Journal of Applied Sciences (BJAS)*, 9(7), 33–37.

## H

- **Hamouda Hamouda Ali, I. (2019).** Etude in vitro et in vivo de l'influence de *Spirulina platensis* et *Chlorella pyrenoidosa* seule et en association sur la flore intestinale (Thèse de doctorat en sciences agronomiques). Université Saad Dahlab de Blida, Algérie.
- **Heo, Y., Kim, M.-Y., & Cho, J. Y. (2025).** *Chlorella vulgaris*, a representative edible algae as integrative and alternative medicine. *Integrative Medicine Research*, 15, 101228.

## I

- **Iriani, D., Feliatra, Hasan, B., Karnila, R., Chaiyanate, N. (2025).** Biochemical processes of *Chlorella vulgaris* and their impact on chlorophyll quality and antioxidant properties. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 17(1). <https://doi.org/10.20473/jipk.vi.61083>

## J

- **Jiménez Morales, W. A., Cañizares-Macías, M. del P. (2026).** A breakthrough SIA-based dual assay for simultaneous evaluation of antioxidant capacity via ABTS and FRAP mechanisms. *Analytical Chemistry*, **98**(6), 4548–4561. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5c05489>
- **Jiménez-Morales, W. A., & Cañizares-Macías, M. del P. (2024).** Fast FRAP-SIA method to determine antioxidant capacity. *Talanta*, **273**, 125813. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.125813>
- **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, Khaldi, H., & Zeggaoui, Z. (2014).** Contribution à l'étude de la production de biomasse chez une microalgue verte *Chlorella* sp. Université Mouloud Mammeri. **17**(1). <https://doi.org/10.20473/jipk.vi.61083>

## K

- **Kumar, A., Ergas, S., Yuan, X., Sahu, A., Zhang, Q., Dewulf, J., Malcata, F. X. et Van Langenhove, H., (2010).** Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. *Trends in Biotechnology*, Volume 28, Issue 7, pp. 371-380.
- **Kholif, A. E., Olafadehan, O. A. (2021).** *Chlorella vulgaris* microalgae in ruminant nutrition: A review of the chemical composition and nutritive value. *Annals of Animal Science*, 21(3), 789–806.
- **Kurnia, D., Rosliana, E., Juanda, D., & Nurochman, Z. (2020).** Aktivitas antioksidan dan penetapan kadar fenol total dari mikroalga laut *Chlorella vulgaris*. *Jurnal Kimia Riset*, 5(1), 14–21.

## L

- **Levy, J. (2023).** La *chlorella* : intérêt thérapeutique, risque sanitaire et conseil à l'officine (Thèse de doctorat d'exercice, Université de Montpellier). HAL Open Science. Leong, T.; Ashokkumar, M.; Kentish, S. 2016; The growth of bubbles in an acoustic field by rectified diffusion. In *Handbook of Ultrasonics and Sonochemistry*; Springer: Singapore, pp. 69–98. ISBN 9789812872784

## M

- **Mendes, A. R., Spínola, M. P., Lordelo, M., Prates, J. A. M. (2024).** Chemical compounds, bioactivities, and applications of *Chlorella vulgaris* in food, feed and medicine. *Applied Sciences*, **14**(23), 10810. <https://doi.org/10.3390/app142310810>
- **Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010).** Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**(1), 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>

- **Makhlof, M. E. M. (2024).** Assessment of antioxidant and anticancer properties with phytochemical analysis of *Chlorella vulgaris* (Beijerinck 1890) methanolic extract. *Egyptian Journal of Phycology*, 25, 57-82.
- **Michel, Pierre. (2017).** La bible des plantes qui soignent. Édition Chêne.
- **Mari, A., Fafalis, C., & Krokida, M. (2024).** Extension of blueberry shelf-life with edible coatings from *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering Transactions*, 110, 79–84

## N

- **Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravalo, M., & Gallo, M. (2019).** Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A Powerful and Greener Alternative. *Foods*, 8(7).
- **Naït Saidi, C. (2024).** Culture des microalgues et traitement des eaux usées. École Nationale Polytechnique.
- **Nurrusyda, F. S., Subroto, T., Hardianto, A., Sumeru, H. A., Ishmayana, S., Pratomo, U., Oktavia, D. N., Latifah, R. G., Dewi, D. A. S. L. A., & Rachmadona, N. (2024).** Analyzing the impact of physicochemical factors on *Chlorella vulgaris* growth through design of experiment (DoE) for carbon capture system. *Molecular Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12033-023-01036-y>

## O

- **Olivo, E. (2007).** Conception et étude d'un photobioréacteur pour la production en continu de microalgues en écloséries aquacoles (Thèse de doctorat, Université de Nantes).
- **Otleş, S., & Pire, R. (2001).** Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgae species. *Journal of AOAC International*, 84(6), 1708–1714.

## P

- **Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., García-Blairsy Reina, G., Señoráns, F. J., & Ibáñez, E. (2012).** Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 245–253.
- **Putri, T. W., Nursida, N. F., Raya, I. (2021).** Antioxidant activity of *Chlorella vulgaris* used as an antioxidant cream. *Journal of Physics: Conference Series*, 1899, 012030. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1899/1/012030>

- **Penloglou, G., Pavlou, A., Kiparissides, C. (2024).** Recent advancements in photo-bioreactors for microalgae cultivation: A brief overview. *Processes*, 12(6), 1104. <https://doi.org/10.3390/pr12061104>

## R

- **Rajendran N., Karpanai Selvan K., Piriya S., Logeswari V., Kathiresan E., Tamilselvi A., Vennison J. (2014).** Phytochemicals, antimicrobial and antioxidant screening from five different marine microalgae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*.ISSN: 0974-2115.
- **Rodriguez-Garcia, I., & Guil-Guerrero, J. L. (2008).** Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. *Food Chemistry*, 108(3), 1023–1026. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.11.059>

## S

- **Sun, Z., Bo, C., Cao, S., & Sun, L. (2025).** Enhancing CO<sub>2</sub> fixation in microalgal systems: Mechanistic insights and bioreactor strategies. *Marine Drugs*, 23(3), 113. <https://doi.org/10.3390/md23030113>

## T

- **Tokuşoglu, Ö., & Ünal, M. K. (2003).** Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science*, 68(4), 1144–1148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09615.x>

## Z

- **Zakaria, S. M., Kamal, S. M. M., Harun, M. R., Omar, R., & Siajam, S. I. (2017).** Subcritical water technology for extraction of phenolic compounds from *Chlorella sp.* microalgae and assessment on its antioxidant activity. *Molecules*, 22(7), 1105. <https://doi.org/10.3390/molecules22071105>

## **Annexes**

**Annexe A 1.** Composition des différents milieux de culture utilisés.

| Milieu                               | Composition                                                                                                                                                    |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Gélose Nutritive (GN)</b>         | <b>Pour 1 litre de milieu</b><br>Tryptone (5,0g)<br>Extrait de viande (1,0g)<br>Extrait de levure (2,0g)<br>Chlorure de sodium (5,0g)<br>Agar (12 ,0g)<br>pH=7 |
| <b>Milieu de Mueller-Hinton (MH)</b> | <b>Pour 1 litre de milieu</b><br>Infusion de viande de bœuf (300g)<br>Peptone de caséine (17,5g)<br>Amidon da mais (1,5g)<br>Agar (17,0g)<br>pH=7,4            |
| <b>Bouillon Mueller-Hinton (BMH)</b> | <b>Pour 1litre de milieu</b><br>Extrait de viande (2g)<br>Hydrolysate acide de caséine (17,5g)<br>Amidon soluble (1,5g)<br>pH=7,3                              |

**Annexe A 2.** Préparation des milieux de cultures.

| Préparation de milieu Muller Hinton                                                 | Préparation de l'eau physiologique                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Eau distillé 1 litre<br>Milieu Muller Hinton 38g                                    | NaCl 3.2g<br>Eau distillée 380ml                                                     |
|  |  |
| <b>Photo 01.</b> Milieu Muller Hinton.                                              | <b>Photo 02.</b> Eau physiologie stérile.                                            |

### Annexe A 3. Standardisation des souches

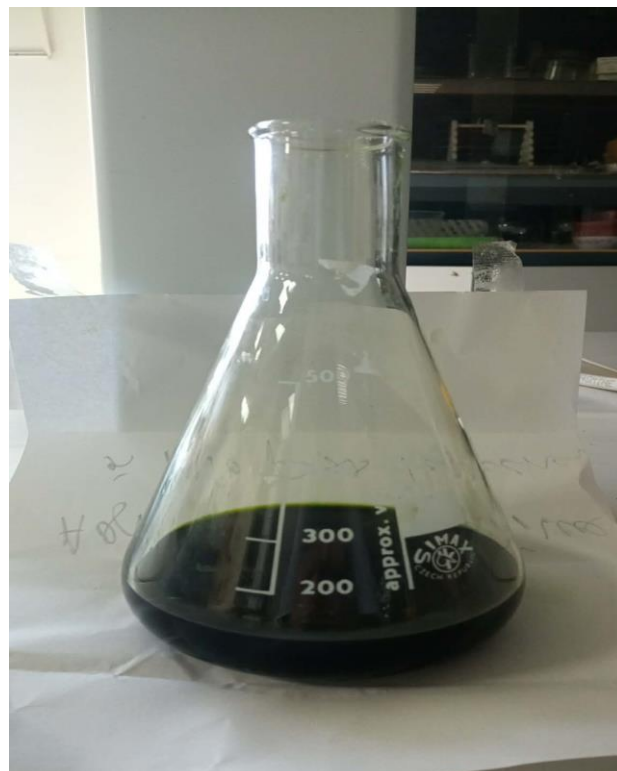


Eau Physiologique + les souches

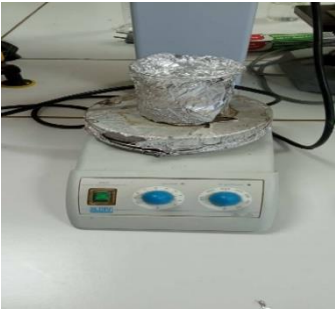


Spectrophotomètre UV-visible

### Annexe A 4. Extrait éthanoïques (90%) de *Chlorella vulgaris*.



**Annexe A 5. Les appareils utilisés.**

| Nom                                   | Photo (originale)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Rota vapeur</b>                    |  A photograph of a Rota vapor apparatus, which is used for the simultaneous distillation and extraction of samples. It features a glass distillation flask connected to a rotating arm that holds a collection vessel, all mounted on a motorized base. |
| <b>Spectrophotomètre</b>              |  A photograph of a benchtop spectrophotometer, a device used to measure the absorbance of light by a sample. It has a white and blue casing with a digital display screen on the front.                                                                 |
| <b>Etuve</b>                          |  A photograph of a laboratory incubator, a temperature-controlled environment used for growing cells or tissues. It has a stainless steel front door and a control panel at the top with digital displays and buttons.                                |
| <b>Balance de précision (KERN Ew)</b> |  A photograph of a precision analytical balance, used for weighing small quantities of material with high accuracy. It features a stainless steel weighing pan and a digital display showing the weight.                                              |
| <b>Agitateur (Stuart UC152)</b>       |  A photograph of a magnetic stirrer, used to mix liquids in a beaker. It has a white base with control knobs and a glass beaker on top containing a magnetic stir bar.                                                                                |

|                           |                                                                                     |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>Elmasonic p</b></p> |   |
| <p><b>Vortex</b></p>      |  |

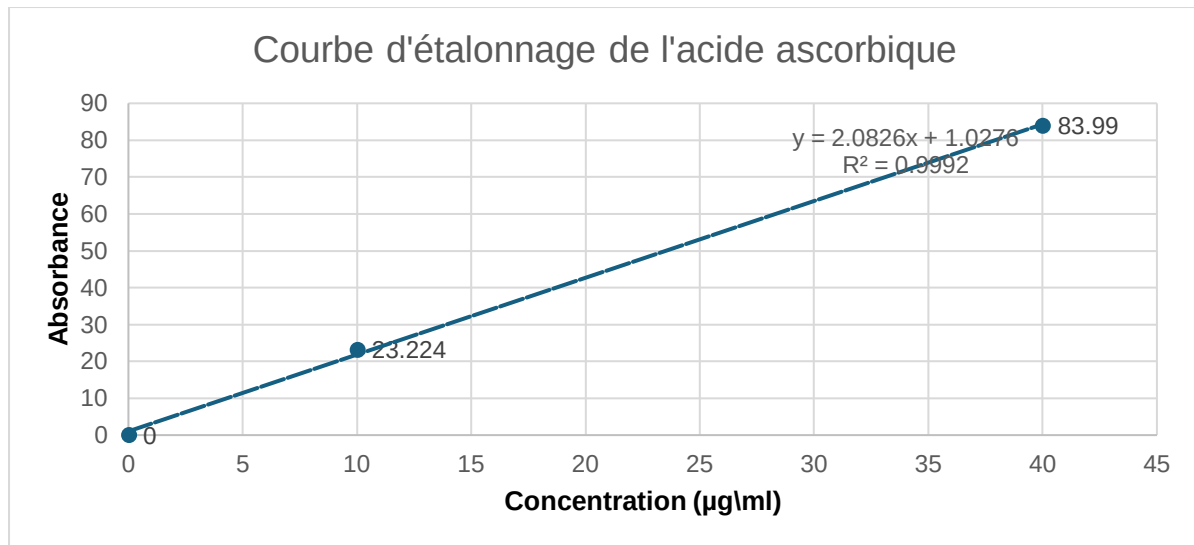
- **Réactifs et solvant**

L'eau distillée ; Ethanol (90%), Réactif de Folin-Ciocalteu, Acide gallique, Chlore ferrique  $\text{FeCl}_3$ , Hcl, Carbonate de sodium, Catéchine, morceau de Mg, solution de KOH, Iode ( $\text{I}_2$ ), DMSO, Quercétine,  $\text{AlCl}_3$ .

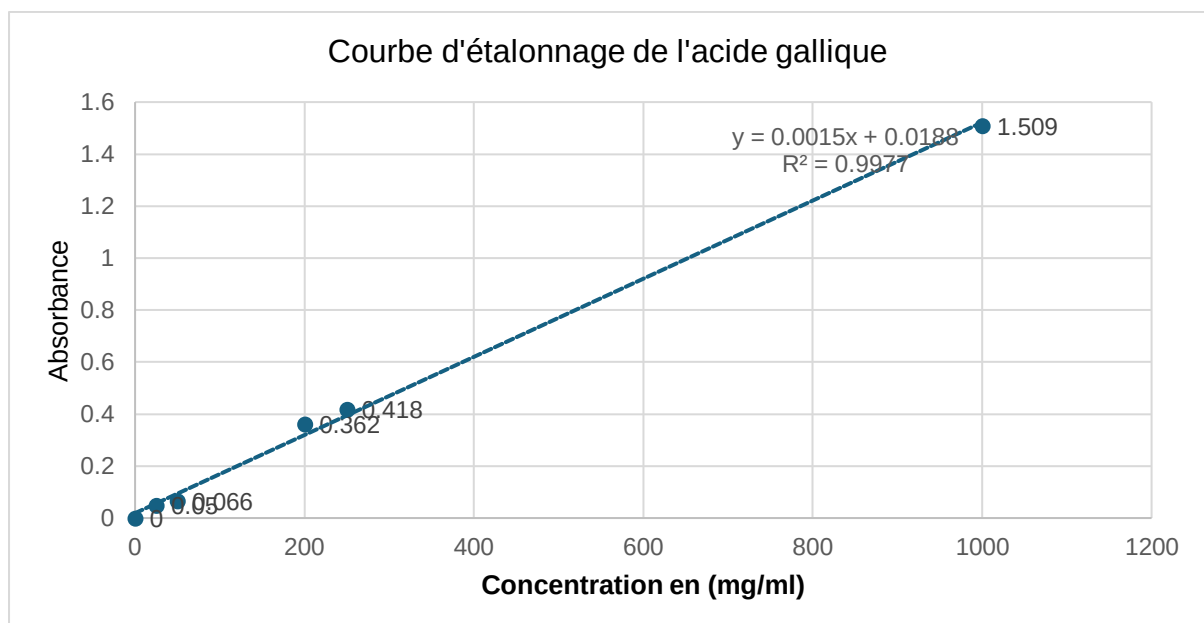
- **Préparation de la solution**

- Carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7,5%) : 7,5g de carbonate de sodium avec 100ml d'eau distillé.
- Trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (2%) : 2g dans 100ml d'éthanol (90%).
- Solution DMSO à 10% : 10ml DMSO avec 90ml d'eau distillé.
- Solution  $\text{FeCl}_3$  à 2% : 2g fer  $\text{FeCl}_3$  avec 98ml d'éthanol (90%).

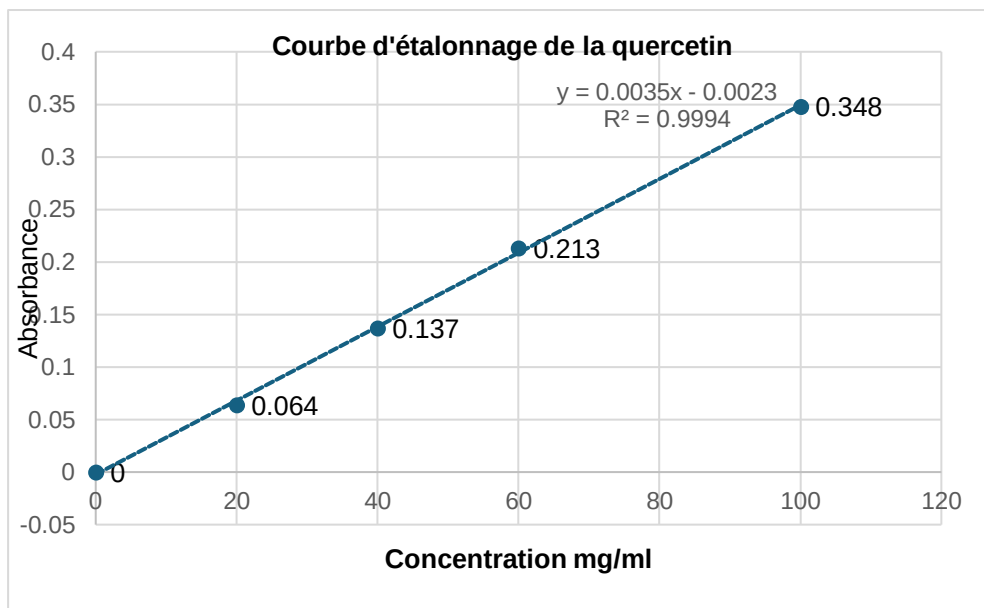
## Annexe A 6



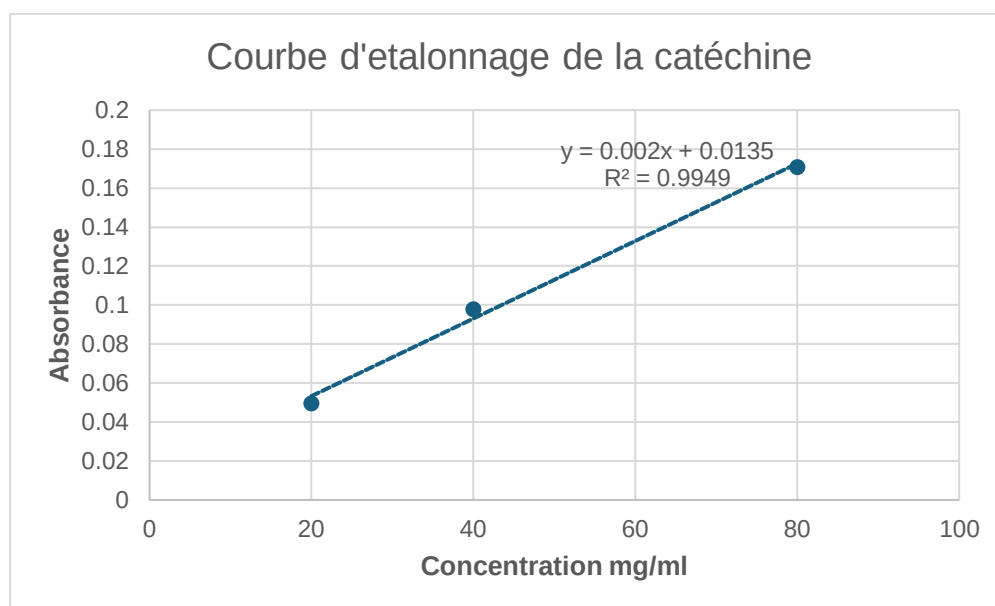
**Figure 01.** La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.



**Figure 02.** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure 03.** La courbe d'étalonnage de la Quercétine.



**Figure 04.** La courbe d'étalonnage de la Catéchine.