



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie de la nutrition et Sante

Intitulé :

**Evaluation de l'activité antioxydante chez les deux
espèces d'algue verte (*Ulva lactuca*) et l'algue brune
(*Sargassum vulgare*).**

Présenté et soutenu par : *MERMOUL Kenza*

Le : 02/07/2018

BOUFENARA Khadidja Nesrine

Jury d'évaluation :

Président du jury : NECIB Youcef (Pr. UFM constantine 1)
Rapporteur : NOUADRI Tahar (MCA UFM constantine 1)
Examineurs : BENNAMOUN Leila (MCB UFM constantine 1)

*Année universitaire
2017- 2018*

Remerciement

Avant tout, on remercie, Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

*Au terme de ce travail, je tiens à remercier notre encadreur **Dr. NOUADRI Tahar**, maitre de conférence « A » qui nous a fait l'honneur de nous diriger et de nous guider au long de la réalisation tout le long de ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à notre encadrante **M^{lle} CHOUH Amina**, doctorante en biochimie ingénieure d'état de soutien de la recherche au CRBT, pour ça conseille et orientation tout au long de ce travail.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements au **Pr. NACIB Youcef**. Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le Jury de ce mémoire.*

*Nous exprime notre profond remerciement à **BENNAMOUN Leila**, Maitre de conférences « B » à l'Université des Frères Mentouri Constantine 1, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.*

Nos remerciement s'étendent à tout le personnel du laboratoire de biochimie du centre de recherche en biotechnologie CRBT pour leur accueil et précieux conseils.

A l'ensemble des enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et particulièrement nos enseignants de spécialité, Biochimie de la Nutrition et Santé

En fin, nous tiens à remercier toutes les personnes qui nos transmis des informations et qui nos donné un avis critique sur non mémoire, et tous qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui ont été toujours la source d'inspiration et de courage, qui ont inséré le goût de la vie et le sens de responsabilité merci

Mes chers parents

A ma très chère sœur Zineb

A mes chers frères, Abd alali & Abd elftahh & Abd elhamid

A mes belles-sœurs Zineb & Bothainna

A tous mes amis pour leurs soutiens particulièrement et surtout :

Siham ,Khawla, Hassina, Nessrine, Itidal ,Djamila, Sakina, Chaima, Phiona, Rayan, Romayssa, Nessrine, Iman, Abla, inass, et tous mes autres amis

A toute ma famille MERMOUL

A mon binôme NESSRIN KHADIDJA

*Et toute la Promotion Master Biochimie de la Nutrition et Sante
2018/2019*

Kenza



Dédicace

Mes remerciements vont tout d'abord au bon dieu pour la volonté et la patience qu'il m'a donné durant ces longues années d'étude afin que je puisse arriver à ce stade, du fond de mon coeur, je dédie ce présent travail :

A celle qui est sacrifiée pour mon éducation, qui est ma source de tendresse de don et de confiance qui attendu ma réussite ma chère mère : [yamina](#) qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance avec mes vœux de bonne santé et de longue vie

A mon cher père : [Abd el raouf](#)

A ma soeur : [Amani El Sabirine](#).

A mes frères : [Abd El Hak Nawfel](#) et [Khir El din Iheb](#).

A mes amies : [Imen](#), [Zaineb](#), [Oumnia](#), [Rahil](#), [Khadidja](#), [Nahla](#) et que notre amitié dure pour toujours

A mon binome : [Kenza](#).

Enfin je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Nessrine Khadidja

Remerciements**Dédicaces****Liste des figures****Liste des tableaux****Liste des abréviations****Introduction01****Chapitre 01 : Généralités sur les algues marines**

1. Introduction.....	02
2. Les bases de la classification des grandes lignées d'algues.....	02
3. Les grands groupes des algues marines	03
3.1. Les algues vertes (Chlorophycées)	03
3.2. Les algues brunes (Phéophycées)	04
3.3. Les algues rouges (Rhodophycées)	04
3.4. Les algues bleues (cyanobactéries)	04
4. Intérêt nutritionnel	05
5. Statut nutritionnel	06
5.1. Les polysaccharides	06
5.1.1. Les polysaccharides de réserve.	07
5.1.2. Les polysaccharides pariétaux	07
5.2. Fibres.....	08
5.3. Les protéines	09
5.4. Lipides.....	10
5.5. Les minéraux	11
5.5.1. Calcium	11
5.5.2. L'iod	11
5.5.3. Magnésium	12
6. Statut chimique.....	12
6.1.1. Caroténoïdes.....	12
6.1.2. Tanins.....	12
6.1.3. Polyphénols.....	13
7. L'intérêt des algues marines dans le monde	13
7.1. En alimentation humaines.....	14
7.2. En alimentation animales	15
7.3. Dans l'industrie alimentaire.....	15
7.4. Dans le domaine pharmaceutique et médical	16
7.5. Dans la biotechnologie.....	16

Chapitre 02 : Stress oxydatif

1. Introduction.....	18
----------------------	----

2. Espèces oxygénées réactives	19
3. Les principales cibles biologiques	20
3.1.ADN.....	20
3.2.Protéines.....	21
3.3.lipides membranaires	21
3.4.lipoprotéines	21
4. Les défenses antioxydants.....	22
4.1.Système de défenses enzymatiques.....	23
4.2.Système de défenses non enzymatiques.....	25
5. les facteurs favorisant le stress oxydative.....	26
5.1.Origine endogène.....	26
5.2.Origine exogène.....	27

Chapitre 03 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	29
1.1.Récolte	29
1.2.Place dans la systématique.....	29
2. Réactifs	30
3. Traitement des échantillons	32
3.1.Préparation des extraits des extraits	32
3.2.Calcul des rendements des extraits secs.....	34
4. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes	34
4.1.dosage des phénols totaux	34
4.2.dosage des flavonoïdes	36
5. Evaluation de l'activité antioxydante	37
5.1.Dosage de l'activité antiradicalaire par le test ABTS	39
5.2.Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC.....	40
6. Analyses statistiques.....	41

Chapitre 04 : Résultats et discussion

1. Rendement des extraits	43
2. Phénols totaux	43
3. Flavonoïdes totaux	46
4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	47
4.1.Activité antiradicalaire par le test ABTS	48
4.2.Activité antiradicalaire évalué par la réduction des ions de cuivre CUPRAC.....	52

Conclusion.....	57
-----------------	----

Références bibliographiques

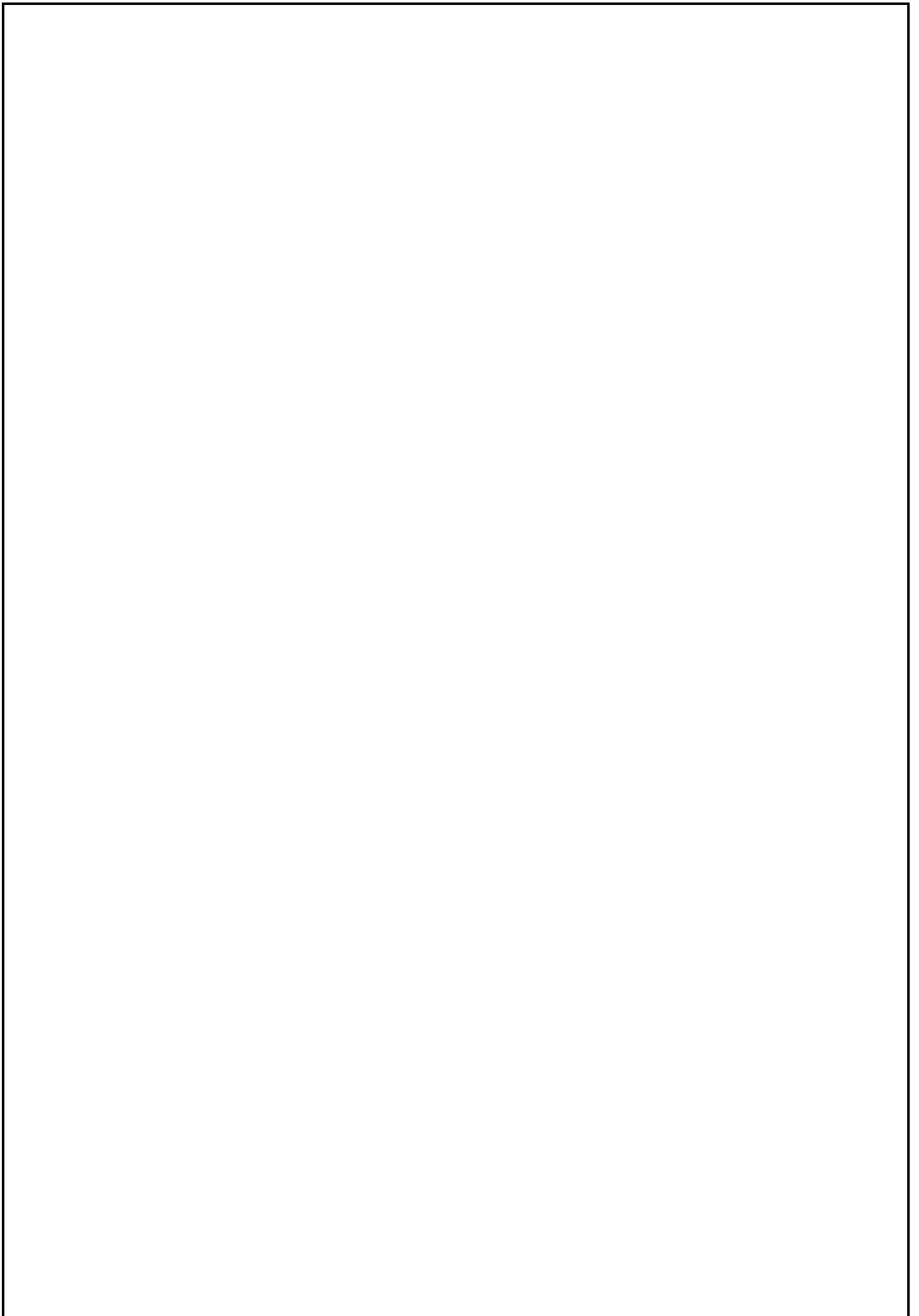
Résumé en français

Résumé en arabe

Résumé en anglais

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Macro algues autorisées pour la consommation humaine en France et majoritairement utilisées	14
02	Réparation des productions de macro algues par usage	14
03	Les principales réactions conduisant à la production des ROS	18
04	Définition de stress oxydatif	19
05	Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes. Les cellules contiennent un spectre d'antioxydants chimiques et enzymatiques qui travaillent de concert pour minimiser les réactions oxydatives dans la cellule	22
06	Les trois types de SOD	23
07	Situation géographique de site de la plage	29
08	La plage d'OuledBoumar Jijel	29
09	Site de récolte	29
10	<i>L'Ulva lactuca</i>	29
11	<i>Sargassum vulgaresp</i>	31
12	Les étapes de préparation d'algue brune	32
13	Les étapes de préparation de d'algue verte	32
14	Evaporateur rotatif de type BUCHI R-210	33
15	Protocole d'extraction de l'extrait d'algues brut	33
16	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	35
17	la courbe d'étalonnage de la quercétine	37
18	La structure de la BHA.	38
19	La réaction chimique de l'ABTS	40
20	Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc	41
21	Microplaque de dosage phénolique	44
22	La teneur des phénols totaux dans l'algue brune <i>Sargassum vulgare</i> .	45
23	La teneur des phénols totaux d'algue verte <i>Ulva Lactuca</i> .	45
24	Schéma de microplaque de dosage des flavonoïdes	46
25	La teneur en flavonoïdes totaux d'algue verte <i>Ulva Lactuca</i> .	47
26	La teneur en flavonoïdes totaux d'algue brune <i>Sargassum vulgare</i>	47
27	La microplaque de test d'activité antiradicalaire ABTS.	48
28	Taux d'inhibition de l'ABTS par différents extraits d'algue verte <i>Ulva lactuca</i> .	49
29	IC50 de l'algue verte l' <i>Ulva lactuca</i> .	49
30	Taux d'inhibition de l'ABTS par différents extraits d'algue brune <i>Sargassum vulgare</i> .	50
31	L'IC50 algue brune <i>Sargassum vulgare</i> .	51
32	La microplaque de test CUPRAC.	52
33	Taux d'inhibition de l'activité réductrice des ions de cuivre d'algue verte <i>Ulva lactuca</i> .	53
34	L'IC50 algue verte <i>Ulva lactuca</i> .	54
35	Taux d'inhibition de l'activité réductrice des ions de cuivre d'algue brune <i>Sargassum vulgare</i> .	54
36	L'IC50 d'algue brune <i>Sargassum vulgare</i>	55



Liste des tableaux

N	titre	page
01	Caractéristique des principales lignées d'algues.	02
02	Caractéristiques importantes des groupes d'algues.	03
03	Composition moyenne d'algues fraîches bretonnes.	06
04	Principaux substituant rencontrés au sein de polysaccharides d'origine algale.	07
05	Contenu en protéines de différentes algues marines utilisées en industries alimentaires.	10
06	la teneur en iode de quelques algues	11
07	les principales espèces ERO et ERA générées dans les systèmes biologiques.	20
08	Classification d' <i>Ulva Lactuca</i>	30
09	Classification de la <i>Sargassum vulgaresp</i>	31
10	Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique	35
11	Le protocole de dilution pour la préparation de la quercétine	36
12	Le protocole de dilution pour les extraits et les standards.	38
13	Rendement de différents extrais	45
14	Résultats de dosage des phénols totaux	45
15	résultats de dosage des flavonoïdes.	46

Liste des abréviations

- AA :** Acide Aminé
- ABTS :** 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- ADN:** Acide désoxyribonucléique
- BHA :** 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole
- [C°] :** Concentration
- CEVA :** Centre d'Études et de Valorisation des Algues
- CUPRAC :** Cupric Reducing Antioxidant Capacity.
- IC50 :** Concentration d'inhibition 50.
- GST :** La glutathion-S-transférases
- LDL :** lipoprotéine de basse densité
- OH :** groupement hydroxyle
- MeOH :** Méthanol.
- TP :** Phénols totaux.
- ROS :** Reactive Oxygen Species : dérivé réactif de l'oxygène
- SOD :** Superoxyde dismutase.
- UV :** Ultra-Violet
- µg :** Micro-gramme

Introduction

Introduction

L'Algérie est un pays avec une face maritime s'étalant sur 1200 Km. L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux (**Tebbal, 2011**).

Récemment, le domaine marin constitue une piste privilégiée de recherche sur les antioxydants et un champ immense d'investigation pour les chercheurs (**Farid et al., 2012**). Un grand intérêt est porté aux produits naturels obtenus à partir d'organismes marins, et en particulier les algues. Fait intéressant : Les algues d'origine marine occupent une place importante en pharmacologie et en médecine (**Mohamed et Hashim, 2012**). Elles sont considérées comme une source d'application potentielle dans de nombreux secteurs industriels : cosmétologie, agriculture, élevage (**Kornprobst, 2015**).

Les composés bioactifs d'algues peuvent agir comme des alternatives aux molécules médicamenteuses, disposant d'un grand avantage par rapport aux médicaments classiques avec une biodisponibilité élevée et souvent une meilleure spécificité (**Samarakoon K. 2012**). Récemment, plusieurs composés d'algues, y compris les polyphénols, les polysaccharides et les protéines, ont été présentés comme des antioxydants puissants qui protègent les cellules contre les radicaux libres et retardent la progression de nombreuses maladies chroniques (**Yildiz G. 2012**).

C'est pour cela nous sommes intéressées de faire une étude phytochimique en quantifiant les teneurs en composés phénoliques et évaluer l'activité antioxydante de l'extrait brut de l'algue verte *Ulva lactuca* et de l'algue brune *Sargassum vulgare sp* Qui été récoltées de la plage Oulad Bounar de la Wilaya de Jijel.

Notre travail est divisé en deux parties :

- La première partie présente l'étude bibliographique sur les algues marines et le stress oxydatif.
- La deuxième partie reporte la partie expérimentale ainsi que la méthodologie suivie, à savoir :
 - Échantillonnage et description du site de la récolte
 - Préparation de l'extrait brut ainsi que les dosages des composés phénoliques et deux tests de pouvoir antioxydant des extraits : l'ABTS et la réduction des ions de cuivre CUPRAC.
 - Enfin nous présentons les résultats obtenus et leur interprétation.

Chapitre I

Généralités sur les algues

1. Introduction

Les algues sont des végétaux qui ne possèdent ni tiges, ni feuilles, ni racines. Leur corps est un thalle, d'où leur nom est thallophyte. Les algues sont des organismes aquatiques capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse. Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles).

Près de 30.000 espèces d'algues soit 18% du règne végétal ont été répertoriées jusqu'ici jusqu'à aujourd'hui, les macro-algues ont suscité beaucoup d'études (**Leclerc., al 2010**).

2. Bases de la classification des grandes lignées d'algues

Plusieurs critères rentrent en considération, citent leurs compositions pigmentaires, leurs caractéristiques structurales, leurs modes de reproduction ainsi que leurs polysaccharides de réserve (**Reviere, 2002**).

Tableau 01 : Caractéristique des principales lignées d'algues. (**Raviers, 2002**).

Embranchement	Caractéristiques		
	Type de chlorophylle	phycobiliprotéines	Polysaccharides de réserve
<i>Bacillariophyta</i>	a ; c	-	Chrysolaminarane
<i>Chlorophyta</i>	a, b	-	Amidon intraplastidial
<i>Chrysophyta</i>	a, c	-	Chrysolaminarane
<i>Cryptophyta</i>	a, c	PE	Amidon périplastidial
<i>Cyanophyta</i>	a	PC, PE	Glycogène
<i>Dinophyta</i>	a, c	-	Amidon cytoplasmique
<i>Euglenophyta</i>	a, b	-	Paramylon cytoplasmique
<i>Phaeophyta</i>	a, c	-	Laminarane, mannitol
<i>Rhodophyta</i>	a, d	PC, PE, APC	Amidon floridéen
<i>Xantophyta</i>	a, c	-	Chrysolaminaranes

3. Grands groupes des algues marines

Généralement en trouve quatre groupes qui se diffèrent par leur couleur, Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces (**Garon-Lardiere, 2004**).

Tableau 02 : Caractéristiques importantes des groupes d'algues (**Géraldine et Céline, 2009**).

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a,c) Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues rouges	3900 d'espèces	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotène Zéaxanthine Phycocyanine C Phycoérythrine
Phéophytes (plantes)	Algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a) Allophycocyanines Phycocyanine Phycoérythrine Phycoérythrocyanine

3.1. Algues vertes (*Chlorophycées*)

Avec plus de 6500 espèces (**Splingart, 2013**), Elles présentent une grande diversité de formes uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, aux quelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures, la plupart des algues vertes vivent en eau douce mais aussi les espèces marines sont nombreuses dans les *Ulotrichales* et les *Cladophorales*, et dominant dans les *Siphonales*. Une partie des *Chlorococcales* et des *trentepholiales* sont aérophiles (**Paul, 2006**).

Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (**Garon-Lardiere, 2004**).

3.2. Algues brunes (*Phéophycées*)

Sont des algues annuelles dont on dénombre 1500 espèces. Elles peuvent atteindre 50 mètres de long (**Géraldine et al., 2009**). La couleur brune de ces algues est dû aux pigments xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines (**Garon-Lardiere, 2004**).

Les produits du métabolisme dissous dans les vacuoles sont surtout de la *laminarines* et du *mannitol*. Il y a souvent des lipides mais jamais d'amidon. Les parois cellulaires pauvres en cellulose, sont surtout formées d'*alginates* et de *fucoïdine* (**Paule, 2006**).

3.3. Algues rouges (*Rhodophycées*)

Les rhodophytes ou algues rouges prend à partir de la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. Sont des algues annuelles de 3500 espèces, dont les plus consommées sont les algues *dulse*, *nori* ou *carraghénanes* (**Géraldine et al., 2009**).

Ils sont principalement marins et pour la plus part pluricellulaires, ils se divisées en deux groupes: celui des *Bangiophycées* (qualifiées de primitives) et celui des *Floridéophycées* (plus complexes). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (**Garon Lardiere, 2004**).

Les algues rouges produisant des glucides de faible poids moléculaire, analogue de glycogène appelé (amidon floridéen) mais pas l'amidon proprement dit (**Paul, 2006**).

3.4. Algues bleues (cyanobactéries)

Connues sous le nom d'algues bleues ou de bactéries Bleu-vert sont des Cyanophyabacteria phylum qui obtiennent leur énergie par photosynthèse (**Perosa et al., 2015**). On en dénombre environ 15000 espèces mais leur durée de vie n'est que de quelques semaines (**Géraldine et al., 2009**).

Elles constituent des colonies de taille, de forme et de couleur très variables, se présentent généralement sous forme de fins filaments. Contenant un pigment qui leur confère une couleur bleue (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle a, elles peuvent modifier la couleur des eaux où elles prolifèrent (**Garon-Lardiere., 2004**). Capable de vivre dans les milieux extrêmes. (**Pierre., al 2013**).

Depuis des millions d'années, ces microorganismes ont été intimement associés au développement de la vie sur la terre et ont contribué à enrichir l'atmosphère terrestre en oxygène. (AFSSA-AFSSET, 2006).

4. Intérêt nutritionnel :

Les algues ont un excellent intérêt nutritionnel depuis l'antiquité en raison des glucides à faible teneur en calories, acides gras polyinsaturés, riches en vitamines, minéraux et fibres alimentaires ainsi que la présence de composés bioactifs importants de valeurs pharmaceutiques tels que les phlorotannins et les polysaccharides qui ne se trouvent pas dans les plantes terrestres, ce qui peut jouer un rôle dans la modulation des maladies chroniques. (Chu *et al.*, 2016 ; Sankar *et al.*, 2016).

L'étude des littératures a révélé que les algues vertes contiennent également des teneurs en protéines plus élevées (10 à 30% De poids sec). Dans le monde entier, environ 150 espèces d'algues sont consommées comme aliments humains. (Kumari *et al.*, 2010).

Tableau 03 : Composition biochimique moyenne d'algues fraîches bretonnes. (CEVA, 2016).

Pour 100 g algues fraîches	<i>Kombu royal</i>	<i>Wakame</i>	<i>Wakame atlantique</i>	<i>Haricot de mer</i>	<i>Laitue de mer</i>	<i>Dulse</i>
	<i>Saccharina Latissima</i>	<i>Undaria Pinnatifida</i>	<i>Alaria esculenta</i>	<i>Himanthalia elongata</i>	<i>Ulva sp</i>	<i>Palmaria palmata</i>
Energie	35	18	26	23	22	24.5
Eau	86.5	90.9	89.4	88.2	88.6	88.4
Protéines(g)	1.8	1.7	2.0	1.3	1.6	2.1
Lipides(g)	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.2
Glucides (par différence) (g)	3.8	0.5	1.0	1.7	1.1	1.3
Fibres (g)	5.4	3.6	5.6	4.6	4.2	4.5
Sel (g)	1.3	1.8	2.1	1.3	2.2	1.3
Potassium (mg)	962.1	813.4	699.4	1181.4	258.5	1315.9
Magnésium (mg)	113.1	112.5	164.9	110.4	340.3	59.6
Calcium (mg)	140.6	66.5	124.1	95.1	95.1	105.4
Iode (mg)	88.3	1.3	2.1	0.8	0.7	1.1
Fer (mg)	2.9	0.3	1.5	0.2	2.6	2.4
Béta- carotènes (mg)	0.8	0.5	1.6	0.1	0.7	0.5
Vitamine C (mg)	12.7	6.5	19.4	36.8	8.0	7.2
Vitamine B9 (ug)	33.4	40.1	76.3	16.3	22.3	68.6
Vitamine k1 (ug)	44.4	66.8	30.0	5.9	2.1	73.1
Polyphénols (mg)	145	152	408	723	44	70
Fucoxanthine (mg)	7.8	6.8	14.4	4.9	-	-

5. Statut nutritionnel

L'algue est un aliment traditionnel qui présente un intérêt nutritionnel connu et exploité depuis de nombreuses années, la valeur nutritionnelle des algues peut s'expliquer par la présence de nombreux composants : fibres, minéraux et protéines ...etc. (Marfaing, 2017).

5.1. Polysaccharides

La majorité des polysaccharides d'origine algale correspond à des hétéropolysaccharides. Ils sont constitués d'unités répétitives comportant au moins deux résidus différents par unité, les unités pouvant être ramifiées. Ces hétéropolysaccharides peuvent contenir divers substituants liés par des liaisons éther, ester, amide, sulfate ou acétalique (Tableau 4). Ces groupements sont en grande partie responsables des propriétés physico-chimiques des polymères qui les portent. De manière générale, les taux en sulfate des polysaccharides d'origine algale sont plus importants que ceux rencontrés chez les bactéries (Percival&McDowell 1967 ; Chevolutet al., 2001). Les phosphates sont également considérés comme des substituants récurrents des hétéropolysaccharides d'origine algale.

Tableau 04 : Principaux substituant rencontrés au sein de polysaccharides d'origine algale.

Origines du substituant	Nature du substituant	Structure	Nature de la liaison
Organique	O-Methyl	-OCH ₃	Ether
	Pyuvyl	-O[C(CH ₃) CO ₂ H]O-	Acétals
Inorganique	Sulfate hémiester	-OSO- ₃	Ester

On distingue différentes catégories de polysaccharides au sein des algues : les polysaccharides de réserve et les polysaccharides pariétaux, eux-mêmes différenciés selon leur localisation dans la phase fibrillaire ou matricielle.

5.1.1. Polysaccharides de réserve

Il s'agit des polysaccharides qui résultent directement du mécanisme photosynthétique et ils sont stockés notamment dans les vacuoles des algues. Le type de stockage varie selon les espèces d'algues concernées (**Tableau 01**). Chez les algues brunes, il s'agit d'un polymère de β -(1,3)-glucopyranose (laminarine), d'un polymère de α -(1,4)-glucose (amidonfloridéen) chez les algues rouges est de glucane (polymère de β -(1,4)-glucose) et chez les algues verte. Les mêmes types de stockage ont été observés chez les diatomées, micro-algues unicellulaires appartenant au phytoplancton (formes pélagiques) ou au microphytobenthos (formes benthiques) (**Underwood & Paterson, 2003**).

5.1.2. Polysaccharides pariétaux

La paroi des algues diffère significativement de celles des autres organismes végétaux par son organisation et sa composition. De nombreux auteurs considèrent cette dernière comme étant une structure biphasique composée d'une phase fibrillaire cristalline squelettique et d'une phase matricielle unique à l'algue. La nature chimique des colloïdes produits à la périphérie des cellules algales est d'ailleurs un critère de classification.

a. Phase fibrillaire

Il s'agit d'une phase dite squelettique, constituée notamment de polysaccharides insolubles. Cette phase est ordonnée et enrobée dans une matrice amorphe mucilagineuse, l'espace intercellulaire étant occupé par ce même mucilage. Les microfibrilles sont généralement composées de β -(1,4)-glucopyranose qui forment (i) des chaînes celluloseuses

arrangées en feuillets et stabilisées par des liaisons hydrogènes (**Craigie, 1990**). D'autres polymères comme (ii) des xylanes et (iii) des mannanes participent, au même titre que la cellulose, à la structuration de la paroi cellulaire (**Kloareg&Quatrano, 1988**).

- (i) **La cellulose** compose significativement la paroi des algues vertes (jusqu'à 70 % en poids sec) contrairement aux algues brunes (< 20 % en poids sec) (Kloareg&Quatrano, 1988) ou aux algues rouges (< 9 % en poids sec) (Preston, 1974). Les chaînes individuelles de cellulose sont associées en microfibrilles, éléments structuraux de base de la paroi des algues (Chanzy, 1990). Au sein des algues marines, la cellulose comporte généralement d'autres unités saccharidiques que le glucose, telle que le xylose ou le mannose.
- (ii) **Les xylanes** squelettiques des parois cellulaires sont des polymères linéaires d'unité β -(1,3)-D-xylose ou β -(1,4)-D-xylose (Craigie, 1990). Les premiers, qui forment des microfibrilles (Atkins & Parker, 1969) ne sont présents que dans les algues dont la paroi cellulaire ne contient pas de cellulose (Irikiet *al.*, 1960). Les β -(1,4) xylanes fibrillaires sont quant à eux surtout présents chez les algues vertes ou certaines algues rouges (*Porphyra, Bangia*).
- (iii) **Les mannanes** sont des polymères linéaires formés d'unité β -(1,4)-D-mannose dont les chaînes s'associent entre elles pour former des microfibrilles (Kloareg&Quatrano, 1988). On retrouve ces polymères chez les algues rouges et notamment chez les *Bangiophycées* (Gretz *et al.*, 1982).

b. Phase matricielle ou amorphe

La phase matricielle hydrosoluble de nature mucilagineuse, parfois associée à des protéines, est de nature très complexe.

Seuls certains galactanes d'algues rouges (agars, carraghénanes) ou polysides d'algues brunes (fucoïdanes, alginates) d'intérêts économiques ont été caractérisés (**Ruiz, 2005**).

5.2. Fibres

Les algues contiennent des quantités intéressantes de fibres, particulièrement sous forme soluble. Selon la variété, une portion d'algues fraîches peut contenir jusqu'à 8 % de la quantité de fibres recommandée quotidiennement, et les algues séchées, quant à elles, contiendraient de 35 % à 50 % de leur poids sous forme de fibres (**Jiménez-Escrig et al., 2000**).

Dans les trois types d'algues on trouve différentes types des fibres pour les algues brunes on trouve des alginates et des fucanes et des laminariales. Les algues rouges pourront

contenir des galactanes plus ou moins sulfatés (agar et carraghénanes), des porphyranes ou des xylanes ainsi que des glucides de réserve. Enfin, les algues vertes alimentaires sont constituées d'ulvanes et peuvent également contenir de l'amidon comme glucide de réserve (**Lahaye, 1991**). (**HoldtSL, 2011**).

5.3. Protéines

La valorisation des algues est étroitement liée à la composition minérale de ces dernières (fer, calcium, magnésium) ainsi qu'aux propriétés fonctionnelles des polysaccharides qu'elles contiennent. Peu de travaux mettent en avant la valeur nutritionnelle des protéines d'origine algale (**Fleurence 1999 ; Marfaing&Lerat 2007**).

Le taux de protéines chez les algues varie considérablement selon les espèces et des facteurs abiotiques comme la saison (**Fleurence& Guéant, 1999 ; Galland-Irmouliet al., 1999**).

Parmi les protéines algales, il faut citer la présence chez les algues rouges et bleues de molécules particulières : les phycobiliprotéines, qui sont les principaux pigments de ces algues et font partie du système de collecte de l'énergie lumineuse (**Fan-jie, al., 1984**). Les phycobiliprotéines (phycocyanine des spirulines et phycoérythrine des algues rouges) possèdent par ailleurs des propriétés antioxydantes qui pourraient être mises à profit dans la prévention ou le traitement de maladies dégénératives : certaines formes de cancer, maladies cardiovasculaires ou ophtalmiques liées au stress oxydatif (**Gonzalez , al., 1999**) ; (**Padula; al., 1999**) ; (**Remirez , al., 1999**).

La fraction protéique des algues brunes est faible (3-15 % du poids sec), comparativement aux fractions protéiques des algues vertes ou rouges (10-47 % du poids sec) (**Arasaki&Arasaki 1983 ; Rupérez& Saura-Calixto, 2001**).

Tableau 05 : Contenu en protéines de différentes algues marines utilisées en industries alimentaires, **d'après Fleurence (1999).**

Espèces d'algues marines	<i>Palmaria palmata</i>	<i>Porphyra tenera</i>	<i>Ulva lactuca</i>	<i>Ulva petusa</i>	<i>Laminaria adigitata</i>	<i>Fucus</i>	<i>Ascophyllum nodosum</i>
Protéines (%en poids sec)	8-35	33-47	10-21	20-26	8-15	3-11	3-15

Globalement, la fraction protéique des algues est utilisée à but nutritif, l'algue étant consommée dans son ensemble, afin de profiter de ces fibres et oligo-éléments. Toutefois, certaines études ont montré que la digestibilité des protéines algales par l'homme ou par du bétail est loin d'être optimale (**Indegaard&Minsaas, 1991**), souvent à cause de polysaccharides ou de groupements phénoliques présents. Des travaux s'intéressent ainsi à l'utilisation de prétraitements enzymatiques des algues afin d'éliminer les matières fibreuses (**Armano&Noda, 1992**), et améliorer la digestibilité des protéines.

5.4. Lipides

La teneur lipidique des algues est très faible : de 1 à 5 % de la matière sèche. Les lipides algaux présentent une proportion en acides gras essentiels importante (**Darcy-Vrillon B, 1993**).

Les algues rouges contiennent des taux élevés d'acides gras polyinsaturés à 20 carbones. L'acide eicosapentaénoïque (EPA) en particulier constitue 50% des acides gras polyinsaturés chez *Porphyra* sp. Et *Palmaria palmata* (**Marfaig, 2004**).

L'étude de la fraction lipidique de l'algue brune *Cystoseira sedoïdes* des côtes algériennes, a montré une multitude d'acides gras de C12 à C20, parmi lesquels se distinguent les acides gras saturés et insaturés (**Benchabane, 1989**).

Les algues vertes dont la composition en acides gras est la plus proche de celle des végétaux supérieurs ont par rapport à ceux-ci, une teneur beaucoup plus élevée en acide oléique (C18:1) et en acide alpha-linolénique (α -C18:3). (**Marfaig, 2004**).

5.5. Minéraux

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux. La fraction minérale peut représenter jusqu'à 36 % de la masse sèche. La diversité de ces éléments représente est énorme : calcium, sodium, potassium, phosphore, iode, fer, zinc, magnésium, etc.

5.5.1. Calcium

Les algues constituent une des sources végétales de calcium les plus importantes avec des teneurs pouvant atteindre 6 % de la masse sèche chez les macroalgues (*Ulvasp.*). Encore plus intéressant, l'algue calcaire lithothamniée contient de 25 à 34 % de calcium. Le calcium des maërls se solubilise très bien dans les conditions gastriques (pH = 1,5) et produit quantitativement du calcium ionisé biodisponible (**Assoumani MB, 1997**).

5.5.2. Iode

L'iode contenu dans les algues est disponible pour l'organisme d'où leur intérêt nutritionnel notamment pour le bon fonctionnement de la glande thyroïdienne. (**Ieclerc v et al., 2010**).

Les algues sont les aliments qui contiennent le plus d'iode, quelques grammes d'algues séchées par jour suffisent à combler notre besoin d'iode. Dans les algues brunes, notamment les laminaires et les fucales, sont celles qui accumulent le plus d'iode, l'iode minéral qui domine avec plus de 80% de l'iode total, alors que chez les algues vertes les proportions sont inversées. Tandis que pour les algues rouges les teneurs sont intermédiaires (environ 40% d'iode minéral et 60% d'iode organique)

Tableau 06 : La teneur en iode de quelques algues (**CEVA, 2014**).

		Teneur en mg/kg sec
Algues brunes	<i>Laminariadigitata</i>	2020-7454
	<i>Laminariasaccharina</i>	2789-5277
	<i>Fucus vesiculosus</i>	240-728
	<i>Undariapinnatifida</i>	118-374
	<i>Hilmanthaliaelongata</i>	90-168
Algues rouges	<i>Palmariapalmata</i>	40-541
	<i>Porphyra umbilicalis</i>	67-188
Algues vertes	<i>Ulvasp</i>	10-131

5.5.3. Magnésium

Il est intéressant de noter que les macroalgues peuvent apporter du magnésium en quantité notable, en particulier le maërl (algue calcaire *Lithothamnium calcareum*), les algues vertes et brunes. Ainsi 7 g de maërl ou de laitue de mer déshydratée contribuent à 50 et 38 % des AJR en magnésium respectivement. L'absorption du magnésium diffère selon les algues. Celles-ci du fait de leur richesse en fibres, peuvent lier les minéraux et la capacité d'échange des fibres a été rapportée pour impacter l'absorption minérale. Des études ont montré des faibles absorptions du magnésium chez des rats pour le *nori* (*Porphyra tenera*), le *wakame* et l'*hijiki*. Cependant le magnésium absorbable est élevé pour l'algue verte *Ulva* et le *kombu* (*Laminaria japonica*) (Nakamura, 1996).

6. Statut chimique :

La valeur nutritionnelle des algues peut s'expliquer en grande partie par la présence conjointe de trois grandes catégories de composants (fibres, minéraux et protéines), mais également par la présence de métabolites présentant des propriétés antioxydantes et antiradicalaires tels que caroténoïdes, tanins, flavonoïdes et polyphénols. (Julie, 2010).

6.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants. Les algues brunes sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine, β -carotène et violaxanthine. Les principaux caroténoïdes des algues rouges sont le β -carotène, l' α -carotène et leurs dérivés dihydroxylés: zeaxanthine et lutéine. La composition en caroténoïdes des algues vertes reste voisine de celle des plantes supérieures. Un grand nombre d'études a démontré les propriétés antioxydantes des caroténoïdes algaux et le rôle qu'ils jouent dans la prévention de plusieurs pathologies liées au stress oxydatif (Okuzumi Jet al., 1993 Yan X et al., 1999).

6.2. Tanins

Les tannins sont des polyphénols naturels qui, à l'origine, sont connus pour leur capacité à précipiter les alcaloïdes et les protéines. Les tannins sont des composés phénoliques hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre (500 et 3000 Da) et qui ont à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et d'autres protéines». Même si cette définition reste valable, elle a été complétée grâce aux

méthodes récentes d'analyse qui ont permis d'éclaircir la structure de ces polyphénols. Ainsi, les tannins sont désormais définis comme des polyphénols de masse moléculaire allant jusqu'à 20000Da (**Haslam, 1989; Hagerman, 2002**).

6.3. Polyphénols

La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelées phlorotannins. les phlorotannins constituent un groupe très hétérogène de molécules (structure et dégrade polymérisation) fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes qui en contiennent entre 5 et 15 % du poids se]. l'activité antioxydante d'extraits de polyphénols d'algues brunes et rouges a été mise en évidence par des études in vitro (**Nakamura T, et al., 1996**).

7. Intérêt des algues marines dans le monde

La quantité d'algues produites annuellement par culture ou récoltées dans le monde est de l'ordre de 9 millions de tonnes d'algues fraîches. les producteurs principaux sont la Chine, la Corée et le Japon qui, à eux seuls, totalisent les quatre cinquièmes de la production, principalement par la culture (90 % de cette production). Cette production est majoritairement destinée l'alimentation humaine directe qui représente 75 % de la production mondiale. La deuxième utilisation est l'extraction des colloïdes, qui représente 12,5 %. Le restant est exploité dans les différents secteurs que sont l'agriculture, l'alimentation animale, la cosmétique (**Mac Hugh DJ, 2003**).

Les macro-algues peuvent être utilisées dans des domaines très variés :

- l'alimentation humaine en tant que légumes
- l'agroalimentaire en tant que texturants
- la chimie et la microbiologie pour les milieux de culture
- la cosmétique, la nutraceutique et la pharmaceutique
- le traitement des eaux pour les filtres et solutions
- l'agrofourmiture en tant que produits phytosanitaires, engrais ou aliments pour bétails.







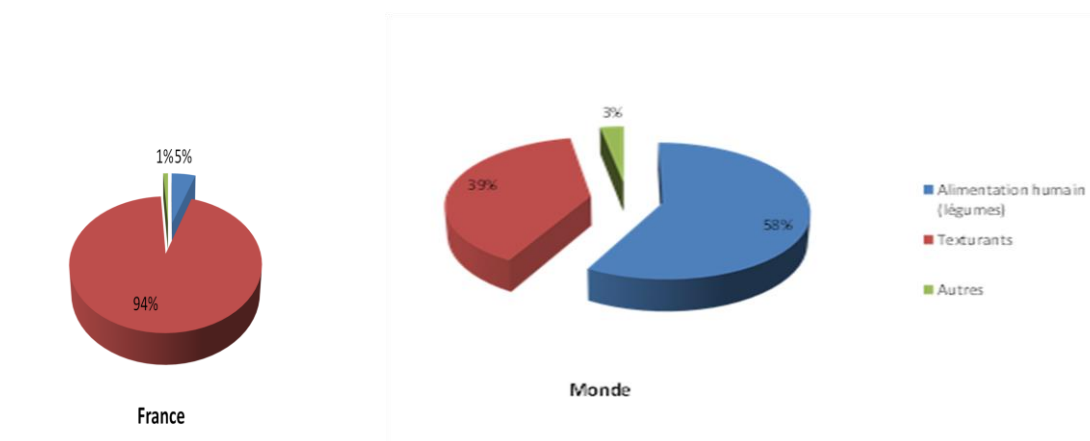
Kombu	Wakamé	Nori	Dulse	Laitue de mer	Haricot de mer
					

Figure 01 : Macro algues autorisées pour la consommation humaine en France et majoritairement utilisées (CEVA, 2014).

Six algues alimentaires sont largement consommées : la laitue de mer (*Ulvasp.*), la dulse (*Palmaria pal- mata*), le nori (*Porphyra sp.*), le wakamé (*Undariapinnatifida*), le kombu (*Saccharinalatissima*) et le hari- cot de mer (*Himanthaliaelongata*). (CEVA, 2014).



N.B : pourcentage par rapport aux productions totales dans le monde et en France

Figure 02 : Répartition des productions de macro algues par usage (CEVA, 2015).

7.1. En alimentation humaine

L'algue en alimentation fait cependant partie du quotidien de l'homme, mais de façon discrète, utilisée pour ses propriétés technologiques et ceci depuis le début des années soixante. Agar, Alginate et carraghénanes sont ainsi devenus des ingrédients incontournables de l'industrie agroalimentaire (Marfaing, 2004). Les algues rouges sont la source d'agar et de

l'agarose. Les genres *Gelidium*, *Gracilaria*, *Acanthoptelis* et *Pterocladia* sont les principaux producteurs de ces matériaux. Le mucilage extrait à chaud de ces algues donne après purification, déshydratation et broyage la poudre d'agar-agar utilisée essentiellement pour gélifier un grand nombre de produits alimentaires mais aussi les milieux de culture pour les microorganismes ou les cultures in vitro (**Chouikhi, 2013**).

7.2. En alimentation animales

Sur de longues périodes, les animaux (ovins, bovins et équidés) qui vivaient en zones côtières consommaient des macroalgues brunes, surtout dans les pays où celles-ci étaient rejetées sur le rivage, d'ailleurs l'algue rouge *Palmariapalmata* était appelée « goémon à vache ». Les premiers essais de supplémentation de la ration alimentaire d'animaux d'élevage ont fait apparaître une bonne acceptabilité, une bonne digestibilité et une bonne assimilation des algues.

Aujourd'hui, la disponibilité de macroalgues pour animaux s'est accentuée avec la production de farines. Les macroalgues utilisées en alimentation comme *Ascophylum nodosum* et *Laminaria digitata* fraîchement coupées, sont broyées en fines particules et séchées. Leur analyse a montré qu'elles contenaient des quantités importantes de minéraux, oligoéléments et vitamines. Les oligo-éléments qui sont des éléments essentiels requis pour les mammifères à de petites quantités tels que le fer, le zinc, cobalt, chrome, molybdène, nickel, fluor et iode (**Chouikhi, 2013**).

7.3. Dans l'industrie alimentaire

L'algue en alimentation fait cependant partie du quotidien de l'homme, mais de façon discrète, utilisée pour ses propriétés technologiques et ceci depuis le début des années soixante. Agar, Alginate et carraghénanes sont ainsi devenus des ingrédients incontournables de l'industrie agroalimentaire (**Marfaing, 2004**).

Les algues rouges sont la source d'agar et de l'agarose. Les genres *Gelidium*, *Gracilaria*, *Acanthoptelis* et *Pterocladia* sont les principaux producteurs de ces matériaux. Le mucilage extrait à chaud de ces algues donne après purification, déshydratation et broyage la poudre d'agar-agar utilisée essentiellement pour gélifier un grand nombre de produits alimentaires mais aussi les milieux de culture pour les microorganismes ou les cultures in vitro (**Choikhi, 2013**).

7.4. Dans le domaine pharmaceutique et médical

Plusieurs composés chimiques isolés des macroalgues sont biologiquement actifs dont certains possèdent une activité pharmacologique efficace (**Rorrer et Cheney, 2004**). Une étude sur l'isolement et la détermination de la structure chimique de nouveaux métabolites secondaires pouvant présenter des activités biologiques à potentialités pharmacologiques a été réalisée à partir de deux algues méditerranéennes *Cystoseira crinita* (Phéophycée) et *Lyngbya majuscula* (Cyanophycée) (**Praud, 1994**).

Aujourd'hui, environ 4000 nouveaux métabolites ont été isolés à partir de divers organismes marins et jusque dans les années 1990, ce sont les algues qui ont le plus intéressé les chercheurs (**Praud, 1994**).

7.5. Dans la biotechnologie

Le processus biotechnologique des macroalgues marines a trois éléments: La cellule et le développement de culture cellulaire, la conception de photo bioréacteur, et l'identification des stratégies pour obtenir la biosynthèse de métabolites secondaires (synthèse biomimétique) (**Rorrer and Cheney, 2004**). L'ingénierie biotechnologique (biomoléculaire) des macroalgues marines pour la production de ces composés est un domaine nouveau émergent de la biotechnologie marine. Les Rhodophycées contiennent une protéine particulière appelée phycoérythrine (PE) qui est déjà utilisée dans les applications biotechnologiques comme colorant ou teinture dans des réactions d'immunofluorescence (**Fleurence, 1999**).

Chapitre II

Stress oxydatif

1. Introduction

L'oxygène est indispensable à la vie des organismes aérobies où les mitochondries, "poumons" de la cellule, qui en utilisent d'une part comme substrat de la chaîne respiratoire pour la production de l'énergie sous forme d'ATP (**Figure 03**) et d'autre part impliquées dans la modulation de la fonction cellulaire (différentiation, prolifération) et jouent un rôle dans les réactions inflammatoires et dans la signalisation en tant que seconds messagers (**Murrell et al, 1990; Allen, 1991**). Ce métabolisme induit des effets néfastes dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) et de l'azote (ERA) en équilibre avec les systèmes antioxydants (**Roede et Jones, 2010**) un déséquilibre se produit en faveur des radicaux libres, il y a alors stress oxydatif, pathologique pour les tissus et cellules (**Darley-Usmar et Halliwell, 1996; Chaudiere et Ferrari-Iliou, 1999**).

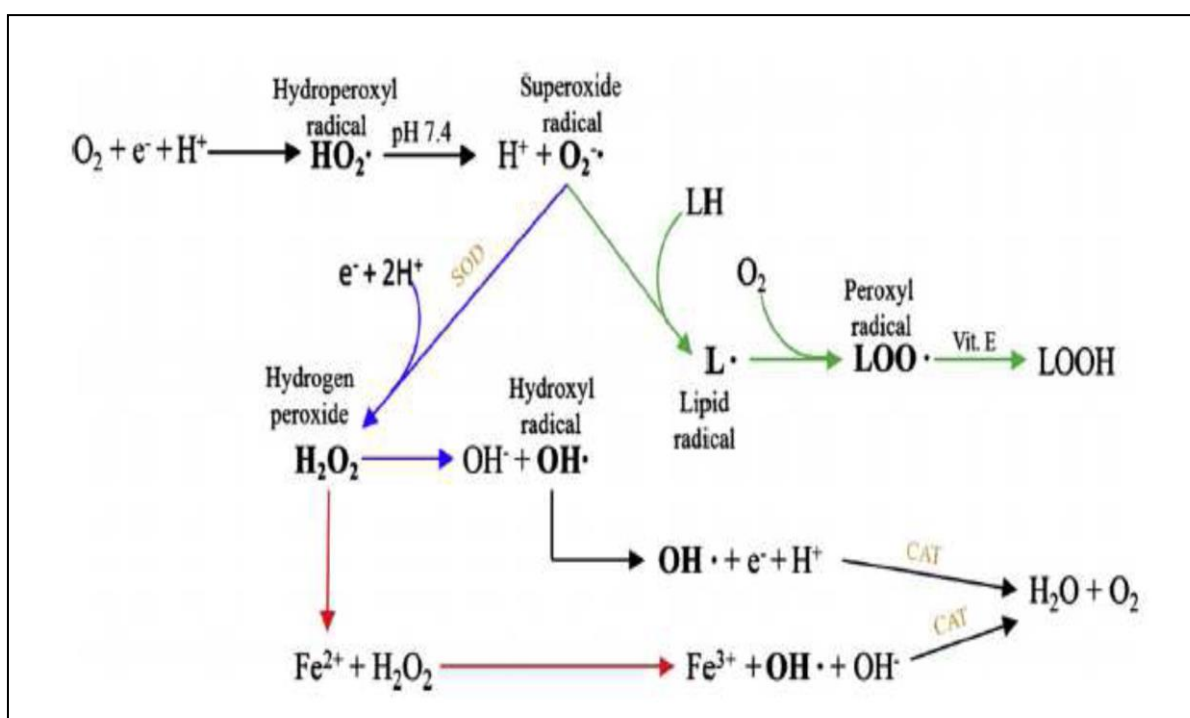


Figure 03 : Les principales réactions conduisant à la production des ROS (**Carocho et Ferreira, 2013**).

Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination. (**Collard, 2003**).

Système de transport des électrons de la membrane interne des mitochondries de bivalves. Les complexes I, III et IV sont les pompes à proton responsables de la formation d'une force proton-motrice utilisée par le complexe V pour la formation d'ATP. Les sens

possibles de circulation des électrons sont représentés par les cheminements pointillés. Bleu, passage avant des électrons; orange, passage inversé des électrons; bleu et mauve ensemble, convergence des électrons; jaune, passage alternatif par l'AOX sans activité de pompage de protons. Les sites réducteurs de l'oxygène responsables de la production de l'anion superoxyde sont représentés au niveau des complexes I et III. (See Lenaz & Genova, 2010).



Figure 04 : Définition de stress oxydatif (Collard, 2003).

2. Espèces oxygénées réactives

Dans les différents milieux biologiques il est vraiment difficile de mettre en évidence les espèces oxygénées réactives due à leur instabilité. Selon leurs nature ; leurs vitesse réactionnelle varie. La durée de vie des espèces oxygénées réactives est extrêmement très courte de la nano à la milli secondes (Jacob, 1995).

Par conséquents, la toxicité et la réactivité des espèces oxygéné n'est pas nécessairement corrélée dans plusieurs cas des espèces peu réactives peuvent être à l'origine d'une grande toxicité en raison de leur demie vie longue qui leur permet de se diffuser et gagner des locations sensibles où elles peuvent interagir et causer des dommages à longue distance de leurs sites de production (Kohen and Nyska, 2002).

Tableau 07 : Principales espèces ERO et ERA générées dans les systèmes biologiques
(Bartosz, 2003).

Nom	Symbole
Anion superoxyde	$O_2\cdot^-$
Radical hydroxyle	$OH\cdot$
Monoxyde d'azote	$NO\cdot$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Acide hypochlorique	$HOCl$
Oxygène singulet	1O_2
Peroxynitrite	$ONOO^-$
Radical alcoxy	RO
Radical peroxy	ROO^-

3. Principales cibles biologiques

Les produits de stress oxydatif peuvent en effet altérer des cibles biologiques telles que : les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les lipides avec altérations des membranes cellulaires. (Sergent et al., 2000).

3.1. ADN

Les dommages engendrés par le stress oxydant au niveau de l'ADN sont de cinq types à savoir l'oxydation des bases, la formation de sites abasiques, la formation d'adduits intra-caténaux, la formation des cassures des brins et des pontages ADN-protéines (Cadet et al., 2002).

Au niveau d'ADN, Les attaques radicalaires peuvent avoir lieu au niveau de la liaison entre le désoxyribose et les bases puriques et pyrimidiques formant un site abasique ou attaquer directement le désoxyribose générant des coupures de chaîne simple brin (Favier, 2003). Ces coupures provoquent des mutations peuvent aboutir à la mort cellulaire. (Imlay et al., 1988 ; Zastawny et al., 1998).

Des adduits peuvent également se former soit avec des aldéhydes mutagènes générés au cours de la peroxydation lipidique ou bien avec les protéines présentes au niveau de l'ADN comme les histones ou les enzymes de réplication. **(Favier, 2003).**

3.2. Protéines

Les protéines subissent des modifications au cours du stress oxydant comme la fragmentation de la protéine, l'oxydation des chaînes latérales des acides aminés et/ou la formation de liaisons croisées entre deux protéines.

L'oxydation des acides aminés peuvent l'être de façon irréversible car l'attaque des radicaux sur les fonctions thiols (SH) des cystéines conduit à la formation de ponts disulfures (S-S) modifiant la structure de la protéine qui peut entraîner des modifications ou bien le perte de fonction **(Bonfont- Rousselot et al., 2001).**

3.3. Lipides membranaires

Les cibles des ROS sont principalement les acides gras polyinsaturés, en raison de la présence de nombreuses doubles liaisons, comme l'acide linoléique ou l'acide eicosapentenoïque. Les réactions radicalaires sont à l'origine de la peroxydation lipidique qui se traduit in vitro par le rancissement. **(Halliwell et al., 1989).**

L'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et perturbe le fonctionnement des récepteurs et des transporteurs se trouvant à leur surface **(Holguin et al., 2010).**

3.4. Lipoprotéines

L'attaque radicalaire des lipoprotéines circulantes aboutit à la formation de LDL oxydées, qui seront captées par des récepteurs spécifiques des macrophages, ces derniers se transforment petit à petit en cellules spumeuses car L'activité de ces récepteurs n'étant pas régulée par la concentration intracellulaire en cholestérol (rôle important dans les premières étapes de l'athérosclérose) **(Nakajima K et al., 2006).** En outre, ces LDL oxydées sont immunogènes et les immuns complexes formés peuvent activer la voie classique du complément et générer la sécrétion de cytokines pro inflammatoires par les macrophages **(Saad A et al., 2006).**

4. Défenses antioxydants

Un antioxydant est défini comme une substance qui est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation dans un produit naturellement oxydable à l'air a faible dose. Aussi globalement toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Park et al., 2001).

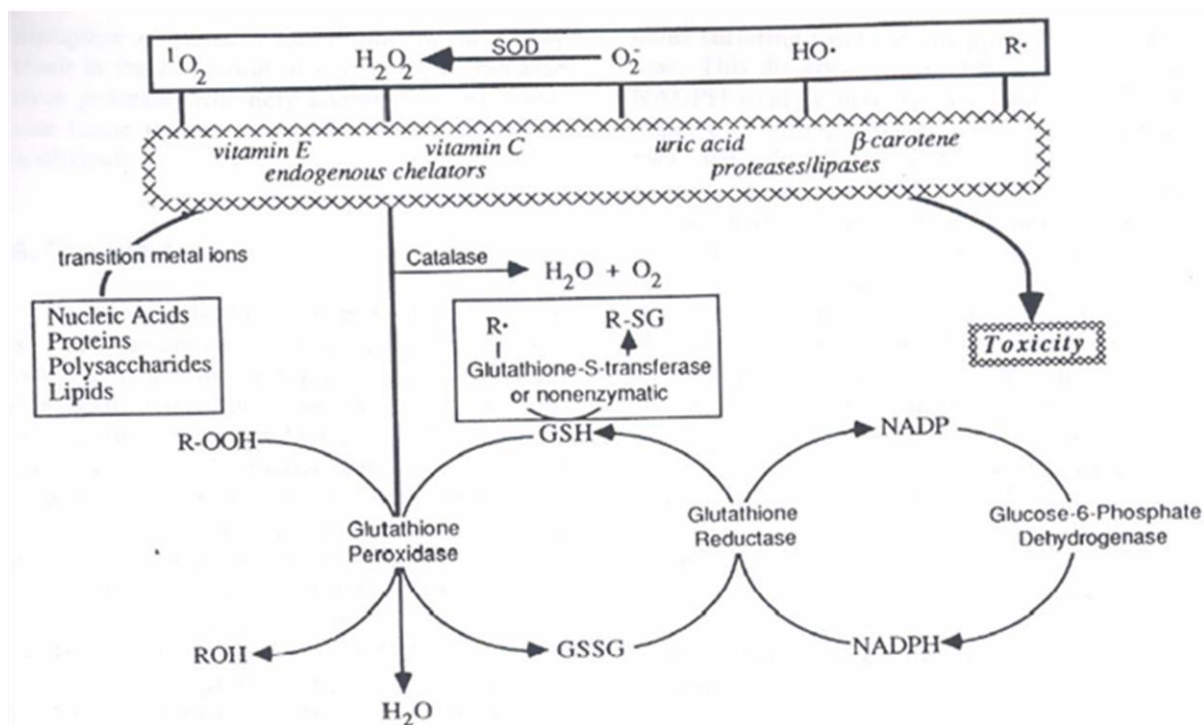


Figure 05 : Systèmes biologiques de défenses anti-oxydantes. Les cellules contiennent un spectre d'antioxydants chimiques et enzymatiques qui travaillent de concert pour minimiser les réactions oxydatives dans la cellule (d'après Kehrer, 1993).

Antioxydants ont pour rôle d'inhiber l'oxydation des substrats la plus parts des enzymes sont des antioxydants primaires qui vont limiter la production des espèces réactives d'oxygène (ERO) et les antioxydants secondaires qui peuvent être des substances lipo-ou hydrosoluble vont piéger les ERO sous une forme peu réactive (Zielinski and Portner, 2000).

4.1. Système de défenses enzymatiques

4.1.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Superoxyde dismutase (Ec 1, 15, 1,1) est l'enzyme antioxydante la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif, est une metalloenzyme qui dismute l'anion superoxyde en oxygène moléculaire et peroxyde d'hydrogène. (Frank et al., 2004).

Il existe trois types de superoxyde dismutase présentés dans la (Figure 3) avec la réaction qui décrit le mécanisme générale dismutase :

- la SOD contenant du cuivre et du zinc (Cu, ZnSOD), avec le cuivre comme catalyseur actif.
- la SOD contenant du manganèse (MnSOD).
- SOD contenant de fer (FeSOD).

Récemment, un nouveau superoxyde dismutase contenant du nickel, NiSOD, été purifié à partir de plusieurs espèces de Streptomyce. (Wuerges et al., 2004) (Schafer and Kardinah, 2003).

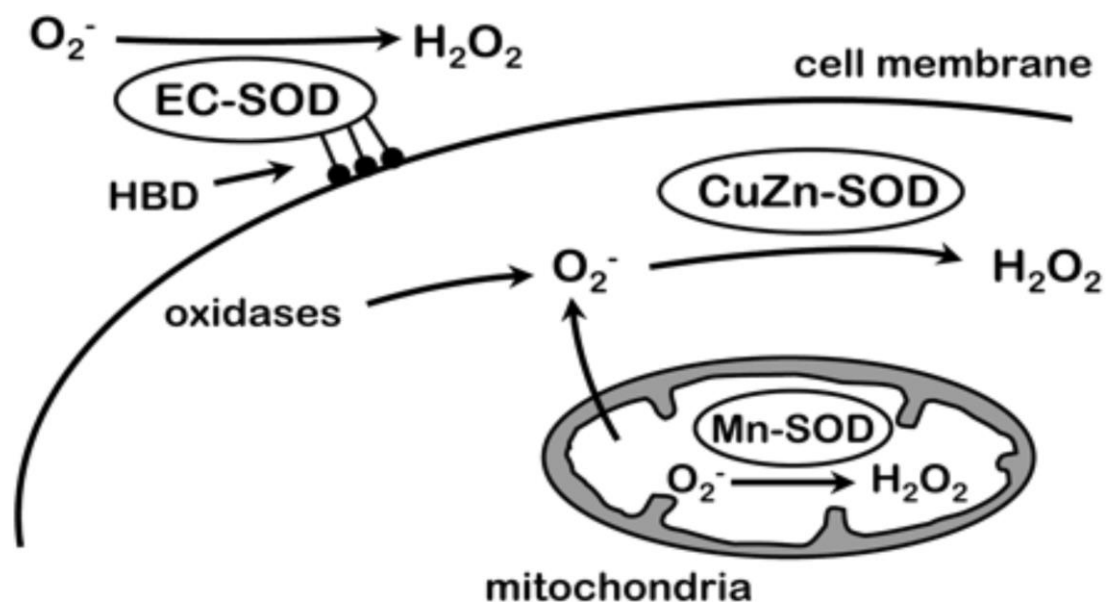


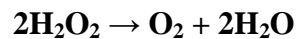
Figure 06 : Les trois types de SOD. (Frank et al.2004).

Dans le cytosol et périplasm des procaryotes Cu / Zn⁻ SOD sont très répandues (Steinman, H. M.1992). Aussi bien que chez les eucaryotes.(Getzoff et al., 1989).

Les types Fe et Mn sont principalement trouvés dans les procaryotes et les mitochondries .Le mécanisme général de dismutation est décrit par la réaction. (Schafer and Kardinah, 2003).

4.1.2. La catalase

C'est une enzyme responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène produit dans les conditions physiologiques (Nancy, 2006). Catalase (Ec 1, 11, 1,6 ; H₂O₂ oxydoréductase) a une activité catalytique très élevé estimé comme 200000/sec par site catalyseur. Catalase (Ye-Shih et al., 2004).



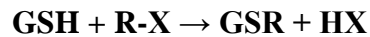
C'est un tétramère dont chaque unité porte une molécule d'hème et une molécule de NADPH. La fixation du NADPH sur la catalase augmente son efficacité et le protège contre l'inactivation (Kirkman et al., 1999). Cette enzyme est présente dans les cellules de presque tous les organismes vivants, c'est-à-dire les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux. (Vainshtein et al., 1985).

4.1.3. Glutathionne-S-transférase

Un système enzymatique multifactoriel présent chez tous les organismes (Renuka et al., 2003). La glutathion-S-transférases (GST EC 2.5.1.18) une famille très importante dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (Zhihua et al., 2004).

En plus de sa fonction de conjugaison du GSH et la réduction des peroxydes, GST est associée avec d'autres processus biologiques, aussi quelques GST sont impliquées dans la modulation des canaux ioniques (Dulhunty et al., 2001) d'autres sont incorporé dans la synthèse des eicosanoides, leukotrienes et les prostaglandines, (Bartling et al., 1993) (Fernandez-Canon and Penalva, 1998).

La réaction qui décrit le mécanisme générale est présentée comme suit :



4.2. Système de défenses non enzymatiques

Contrairement aux antioxydants enzymatiques la plus parts de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme donc apporté par l'alimentation parmi ces piègeurs des espèces réactives d'oxygène en citent les vitamines(E, C) Les caroténoïdes, cytochrome c, la glutathion réduit (GSH).

4.2.1 La vitamine E

La vitamine E est un terme générique qui représente une famille des tocophérols (α , β , δ , γ) nommées sur la base du nombre et la position des groupements méthyles dans le cycle chromanol (**Palozza et al., 2008 ; Masaki, 2010**). Se situe dans tous les membranes cellulaires (**Valk et Hornstra, 2000**).

4.2.2. Vitamine C

C'est l'antioxydant hydrosolubles majeur qui se situe dans les fluides intra- et extracellulaires, La vit C ou acide ascorbique peut directement réagir avec des espèces réactives de l'oxygène comme HO• ou O₂•. Elle peut recycler l' α - tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (**Vertuani et al., 2004**).

4.2.3. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide, dont les propriétés réductrices et nucléophiles jouent un rôle majeur dans la protection contre les altérations oxydantes des lipides, des protéines et des acides nucléiques. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant réside principalement dans sa fonction de co-substrat des glutathion peroxydases. Mais il fait aussi l'objet d'interactions synergiques avec d'autres composants du système de protection antioxydante tels que la vit C, la vit E et les superoxydes dismutases (**Gerard- Monnier and Chaudiere, 1996**).

4.2.4. Caroténoïdes

Sont des pigments naturellement synthétisé par les plantes les algues et certains types de champignons et de bactérie (**Masaki, 2010**) mais les animaux et l'humain ne peuvent pas synthétiser les caroténoïdes de novo et dépendent de l'apport alimentaire (**Stahl et Sies,**

2005). Ce sont des antioxydants liposolubles (**Fusco et al., 2007**), leur activité antioxydante est connue pour être l'une des propriétés biologiques les plus importantes des caroténoïdes (**Polyakov et al., 2006**), elle résulte de la capacité de la double liaison conjuguée à délocaliser les électrons non appariés). Les caroténoïdes sont des éboueurs éminents de l'oxygène singulet et des radicaux peroxydes (**Deaton et Marlin, 2003**).

4.2.5. Oligoéléments

Le cuivre (Cu) le zinc (Zn) le manganèse (Mn) le sélénium (Se) le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydant requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi le SOD mitochondrial a besoin de manganèse, le SOD cytosolique de Zn et de Cu la catalase de Fe et GPX de sélénium. Cependant, certains oligoéléments, notamment le Fe, lorsque ils sont en excès dans l'organisme et sous forme réduite peuvent avoir une action peroxydante. (**Rahman, 2007**).

5. Facteurs favorisant le stress oxydative :

Le stress oxydative peut être causée soit par des facteurs d'origine endogène par le biais de différents mécanismes physiologiques dans l'organisme, soit par des facteurs d'origine exogène, provoqués par plusieurs sources chimiques et physiques.

5.1. Origine endogène

Une des plus grandes sources endogènes de production de radicaux libres (RL) est la mitochondrie par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire. Elle produirait en effet 90% des ROS cellulaires (**Cai et al., 2000**). De plus, les peroxysomes, les microsomes ainsi que les leucocytes tels les granulocytes (neutrophiles et éosinophiles) et les macrophages sont d'importantes sources de production de RL (**Zou et al, 2008; Valko et al., 2006**). Aussi les granulocytes et les macrophages, grandement impliqués dans le système immunitaire de par leur rôle à éliminer certains antigènes, sont munis d'un système NADPH-oxydase capable de produire des anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (**Finaud et al., 2006**).

Le stress psychologique, l'inflammation (infection, maladies chroniques), le cancer, l'ischémie-réperfusion et la mort cellulaire sont aussi des facteurs endogènes (**Molleret al., 1996**).

5.2. Origine exogène

Des facteurs exogènes liés à l'environnement ou au mode de vie sont également à l'origine d'une augmentation du stress oxydant dans l'organisme par l'accumulation de radicaux libre. Parmi ces facteurs on trouve :

- Une alimentation raffinée, riche en graisses saturées et en sucre, consommation d'alcool ou bien une alimentation déséquilibrée (carences en vitamines et oligo-éléments) (**Mena et al., 2009**).
- Les métaux lourds ont la capacité de générer des espèces radicalaires actives, provoquant des dommages cellulaires importants en diminuant les activités enzymatiques et en lésant la bicouche lipidique et les molécules d'ADN (**Flora et al., 2008**).
- L'exposition prolongée aux rayonnements UV, champs électriques, polluants industriels (**Chen et al., 2012**).

Des résidus de la fumée de cigarette, l'alcool ou même certains médicaments sont une source importante de radicaux libres par oxydation des composés au niveau du cytochrome P450 (**Favier, 2003**).

Chapitre III

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Récolte

Les échantillons ont été récoltés au courant du mois de mars 2018. La collecte a été effectuée au niveau de la plage d'Ouled Bounar, Willaya de Djijel à une profondeur entre 20 et 50 m environ.



Figure 07: Situation géographique de site de la plage (Google Earth, 2018).



Figure 08: La plage d'Ouled Bounar Jijel (Photo original).

1.2. Place dans la systématique

L'identification des deux espèces est effectuée au département de biologie marine de l'Université BADJI Mokhtar Annaba.

1.2.1. Algue verte

L'algue verte correspond à l'espèce *ulva lactuca*. « Laitue de mer » est une algue verte qui ressemble à de la salade. Ses frondes vertes, translucides sont très résistantes et de dimensions très variables, se rencontre quasiment partout sur la planète entre les deux cercles polaires, elle s'accroche aux cailloux et aux rochers ou tout autre support, cette espèce est l'holotype du genre *Ulva sp.* **Figure 09 et figure 10.**



Figure 09 : Site de récolte (Photo).



Figure 10 : L'Ulva lactuca (original).

Le thalle d'*Ulva lactuca* mesure jusqu'à 10 cm d'envergure, aplati et entier, membraneux et irrégulièrement perforé, il est fixé par un petit crampon discoïde. Une lame bistrématique possède des cellules de 20 à 23 µm de long et 20- 21 µm de haut, subrectangulaire et jointif, pourvues d'un chloroplaste unique pariétal.

La bordure est un peu ébouriffée et souvent déchirée. Un thalle de la laitue de mer peut atteindre 18 centimètres de longueur ou plus, mais généralement beaucoup moins, et jusqu'à 30 centimètres de diamètre en tout. **(Hayward P.J., et al 1998)**

Tableau 08: Classification d'*Ulva Lactuca*. **(Weinberg S., 1996)**

Classification et taxonomie d'<i>U. lactuca</i>	
Classe	Ulvophyceae
Ordre	Ulvales
Famille	Ulvaceae
Genre	Ulva
Espèce	Lactuca
Rang	Espèce

1.2.2. Algue brune

L'algue brune correspond à l'espèce *Sargassum vulgare sp*, la sargasse est fixée par un disque basal et porte des vésicules aérifères pédicellées. La fronde présente une morphologie complexe rappelant celle des végétaux supérieurs. **Figure 11.**

Algue qui se développe dans l'horizon supérieur de l'étage infralittoral en mode semi battu des côtes rocheuses méditerranéennes et atlantiques françaises souvent à l'abri d'un surplomb Espèce voisine : *Sargassum muticum*. **(Mattio et al. 2013).**

La Sargassum vulgare comporte un ou plusieurs axes principaux d'où partent des rameaux primaires et secondaires. Sur ces rameaux, on observe des organes foliacés présentant parfois une pseudo-nervure, des réceptacles cylindriques taillés en pointe et pédicellés, des aérocytes, vésicules pédicellées et sphériques situées en position latérale **(CRITCHLEY, 1983).**



Figure 11 : *Sargassum vulgare sp* (Photo original).

Thalle court, brun jaunâtre, à nombreux rameaux, fixé par un disque basal. Les rameaux primaires pouvant dépasser les 50 cm de longueur, portent des rameaux secondaires plus courts, diamétralement opposés de part et d'autre de l'axe, dans le même plan. (LE ROUX 1983).

Tableau 09: Classification de la *Sargassum vulgare sp* selon **AlgaeBase**.

Classification et taxonomie d'U. lactuca	
Classe	<i>Phéophycées ou Fucophycées</i>
Ordre	<i>Fucales</i>
Famille	<i>Sargassacées</i>
Genre	<i>Sargassum</i>
Espèce	<i>vulgare C. Agardh, 1821</i>
Règne	<i>Chromista</i>

2. Réactifs

Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude sont de grade analytique. Le méthanol et le chloroforme ont été fournis par Sigma- Aldrich. Les différents acides sont : l'acide gallique de Sigma l'acide phosphorique de biochem.

Les réactifs chimiques sont : le Folin-Ciocalteu (FCR) par Biochem, Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Chlorure de Sodium (NaCl) de Sigma, (S1) (CH_3COOK)

D'autres produits chimiques utilisés : la quercétine, Phosphate de sodium (Na_3PO_4), molybdate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}$), le BHA de Sigma-Aldrich.

3. Traitement des échantillons

Après la récolte, les algues ont été rincées directement à l'eau de mer et déposées dans des seaux remplis d'eau de mer, puis elles sont transportées au laboratoire. A ce niveau, les deux espèces d'algues sont lavés plusieurs fois à l'eau de robinet afin d'éliminer l'excès de sel, les grains de sable et autres particules étrangères, puis séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant trois semaines. Une fois séchée, la matière algale a été broyée en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, et conservé jusqu'à utilisation. **Figure 12** et **Figure 13**.



Figure 12 : Les étapes de préparation d'algue brune (**Photo originale**).



Figure 13 : Les étapes de préparation de d'algue verte (**Photo originale**).

3.1. Préparation des extraits

- Une quantité de 20 gramme de la poudre algale pour les algues vertes et 40 gramme pour les algues brunes est macérée avec le méthanol à température ambiante pendant 24h sous agitation pour but d'extraire le maximum des composés. Après filtration l'extrait obtenu est évaporé à sec sous pression réduite à 40°C pour donner l'extrait méthanolique. **Figure 14**



Figure 14 : Evaporateur rotatif de type BUCHI R-210 (Photo originale).

- Une deuxième extraction avec le chloroforme a été préparée à partir de la même poudre a température ambiante pendant 24 h pour obtenir l'extrait chloroformique.
- L'extrait aqueux a été obtenu par infusion de 20 g de broyat d'algue pour l'algue verte et 40 g pour l'algue brune dans 500 ml d'eau distillée pendant 24h sous agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le mélange est d'abord filtré sur papier Wattman (n°3). Des aliquotes du filtrat sont placées dans une étuve à 40 °C pendant 24 h pour séchage.

Les extraits sec sont conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation. **Figure 15**

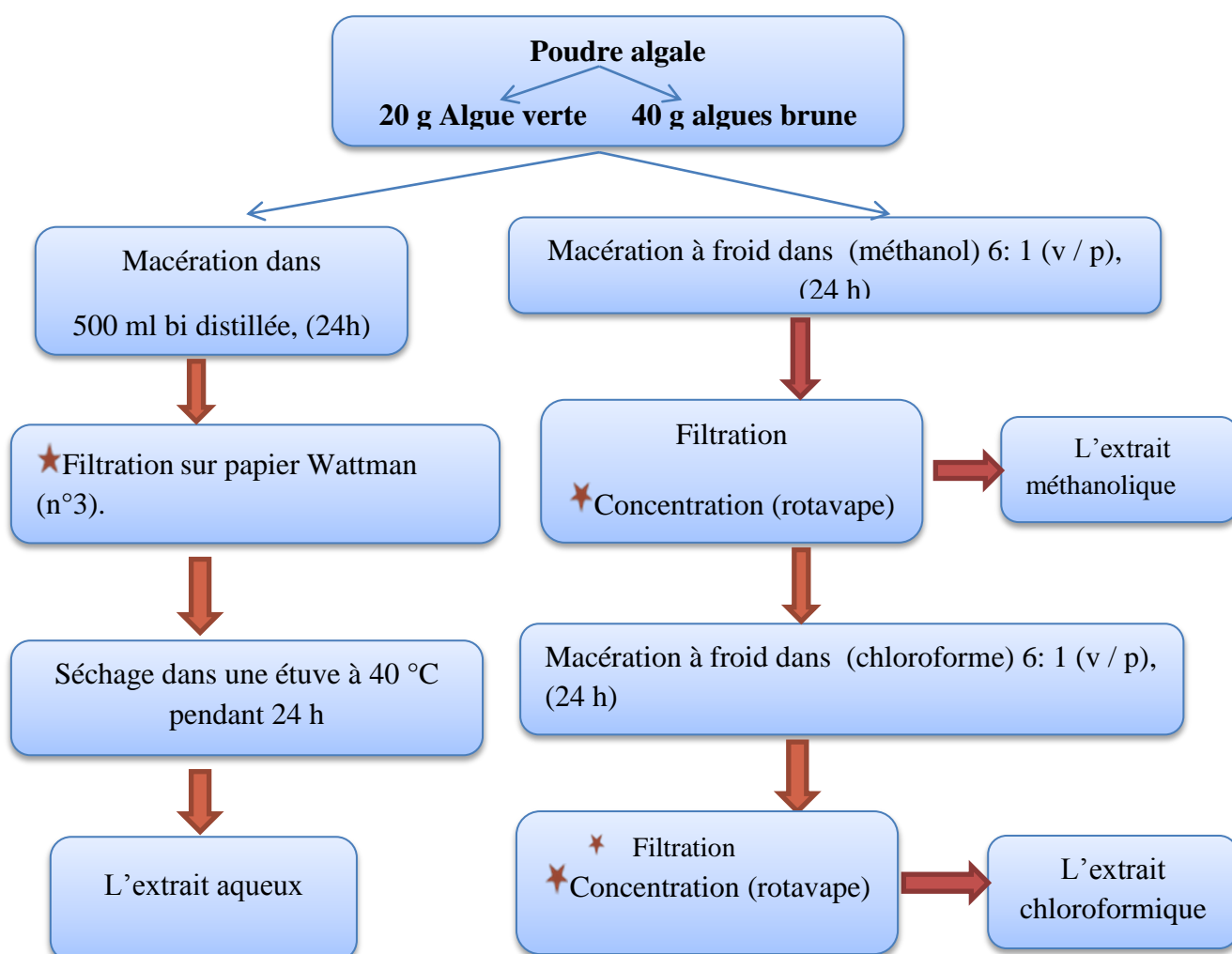


Figure 15 : Protocole d'extraction de l'extrait d'algues brut.

3.2. Calcul des rendements des extraits secs

La détermination du rendement de l'extrait sec est réalisée en appliquant la formule suivante (Afnor, 1986)

$$R(\%) = (P1-P2/P3) \times 100$$

P1: poids du ballon après évaporation

P2: poids du ballon avant évaporation

P3: poids de la matière sèche algale

4. Dosage des phénols totaux et flavonoïdes

4.1. Dosage des composés phénoliques totaux

Le dosage des phénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit selon (Singleton et Rossi, 1965).

4.1.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (Ribéreau, 1968). Dont l'absorption maximale à environ 760-765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (Boizot et al, 2006)

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique à partir d'une solution mère (mg/ml), est exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu gEqAG/mg$ d'extrait).

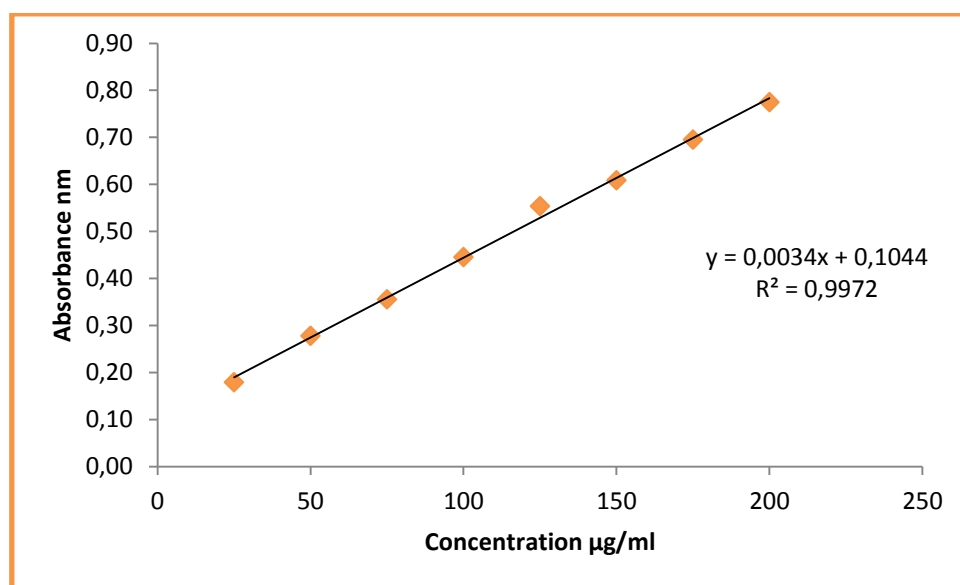
4.1.2. Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissout dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S_1 (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite (tableau 10).

Tableau 10 : Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

Concentrions $\mu\text{g/ml}$	Solution mère (μl)	Eau distillée (μl)	Volume total (μl)
200	200	-	200
175	175	25	200
150	150	50	200
125	125	75	200
100	100	100	200
75	75	125	200
50	50	150	200
25	25	175	200

La teneur en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique **Figure 16** est exprimée en μg d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait ($\mu\text{gEqAG/mg}$ d'extrait).

**Figure 16** : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

4.1.3. Préparation des extraits

Une quantité de 1 milligramme de chaque extrait méthanolique et chloroformique ont été dissoutes dans 01 ml du méthanol, par contre l'extrait aqueux dans un 01 ml d'eau bi distillée.

4.1.4. Procédure

Un volume de 20 μl de chaque dilution de l'acide gallique et les extraits a été transféré dans une microplaque de 96 puits, suivis de l'addition de 100 μl du réactif de Folin-Ciocalteu,

75µl de Na₂CO₃ (7,5%). Après 2 heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance a été déterminée à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Perkin almer comparé à un blanc de méthanol.

4.2. Dosage des flavonoïdes

4.2.1. Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. (Ribéreau Gayon et al., 1972). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 420 nm.

La teneur en flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercitrine de à partir d'une solution mère (0.2mg/ml), et est exprimée en µg d'équivalent de quercétine par mg d'extrait (µgEQ/mg). L'absorbance est mesurée à 430 nm.

4.2.2. Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

On prend 1 mg de la quercétine et on dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution mère de 0,2mg/ml. Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Tableau 11 : Le protocole de dilution pour la préparation de la quercétine.

Concentration µg/ml	Solution mère (µl)	Méthanol (µl)	Volume total (µl)
25	25	175	200
50	50	150	200
75	75	125	200
100	100	100	200
125	125	75	200
150	150	50	200
175	175	25	200
200	200	-	200

La teneur en flavonoïdes est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine **Figure 17**, et est exprimée en μg d'équivalent de quercétine ne par mg d'extrait ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$).

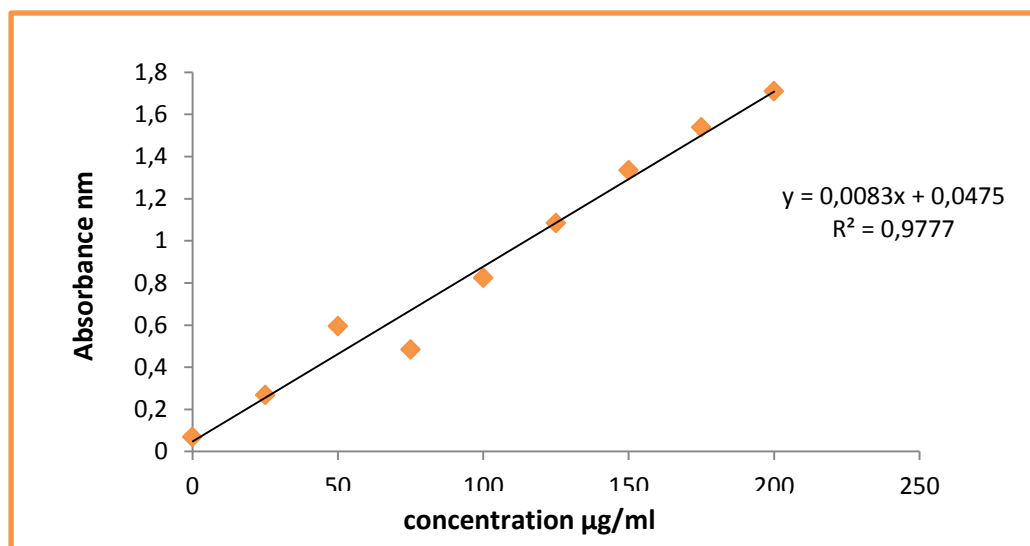


Figure 17 : la courbe d'étalonnage de la quercétine.

4.2.3. Préparation des extraits

Une quantité de 1 milligramme d'extrait méthanolique, chloroformique a été dissoutes dans 1 ml du méthanol, et l'extrait aqueux dans 1 ml d'eau bidistillée.

Les tests des extraits sont pratiqués en triplicate.

4.2.4. Procédure

Un volume de 50 μl de chaque dilution de la quercétine et des extraits a été transférés dans une microplaque de 96 puits + 130 μl méthanol 10 μl (S_1) (CH_3COOK) + 10 μl ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) L'absorbance est mesurée à 415 nm, après incubation à température ambiante pendant 40 min.

5. Evaluation de l'activité antioxydante

L'étude de l'activité antioxydante est testée selon deux méthodes : piégeage des radicaux libres à l'aide du ABTS, La réduction du complexe cuivre-neocuproéne (méthode CUPRAC).

a. Préparation des échantillons

Une quantité de 4 milligramme des extraits et des standards (BHT, BHA), ont été dissouts dans 1 ml du méthanol (Solution mère de 4000 ppm), c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de $\frac{1}{2}$ a été préparé. Le tableau 12 présente la série de dilution préparée pour les extraits et les standards.

Tous les extraits ainsi que les standards ont été préparé de la même manière pour tous les tests antioxydants.

Tableau 12 : Le protocole de dilution pour les extraits et les standards.

Dilution	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Concentration de la solution mg/ml	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.0625

b. Les antioxydants standards

Les résultats sont portés par rapport à des antioxydants synthétiques tels que la BHA (Butyl- Hydroxy-Anisol) et le BHT (butyl-hydroxy-toluène).

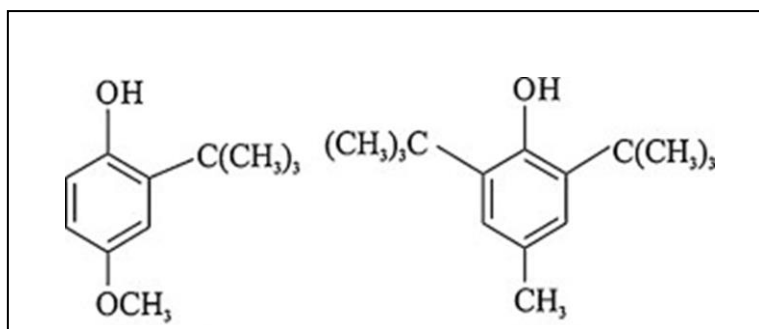


Figure18 : La structure de la BHA.

➤ BHA

Hydroxyanisole butylé (BHA), un antioxydant qui existe à température ambiante sous la forme d'un solide cireux blanc ou légèrement jaune avec une faible odeur caractéristique. (IARC 1986). Il est un conservateur utilisé comme additif alimentaire ainsi que dans les produits d'hygiène. C'est peut-être l'antioxydant synthétique le plus utilisé dans l'industrie alimentaire (D'après allallergy.net). Très efficace pour éviter l'oxydation des graisses et

huiles, surtout celles d'origine animale, il est cependant suspecté d'être cancérigène, reprotoxique et perturbateur endocrinien (UFC Que Choisir, juin 2017).

Le BHA est insoluble dans l'eau, mais il est soluble dans les graisses, les huiles, le propylèneglycol, l'éther de pétrole, le chloroforme et l'alcool à 50%. (ChemIDplus 2009).

➤ **BHT**

Butyl Hydroxy Toluène (ou 2.6 Di-tert.-butyl-4-methyl-phenol) un antioxydant de qualité alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Poudre cristalline blanche, avec légère odeur spécifique. Il résiste aux fortes températures qui peuvent être atteintes lors de la fabrication du produit, contrairement à certains antioxydants comme la vitamine E. (Thompson et Trush, 1986).

Empêche le rancissement dans aliments contenant des graisses par terminaison des réactions en chaîne impliquant des radicaux libres qui sont responsables de la dégradation oxydative des graisses. Peut-être ajouté seul ou en combinaison avec gallates, BHA. (Babu and Wu 2008)

5.1. Dosage de l'activité antiradicalaire par le test ABTS ⁺⁺

5.1.1. Principe du test

ABTS ou acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un cation radicalaire libre et stable très utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. (Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans et al 1995).

L'ABTS formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu (Re et al, 1999) (Figure 19).

La réaction est suivie spectrophotométriquement selon la variation de spectre d'absorption à 734 nm, les résultats enregistrés ont permis de calculer le taux d'inhibition des différents extraits. (JIRI et a.l, 2010).

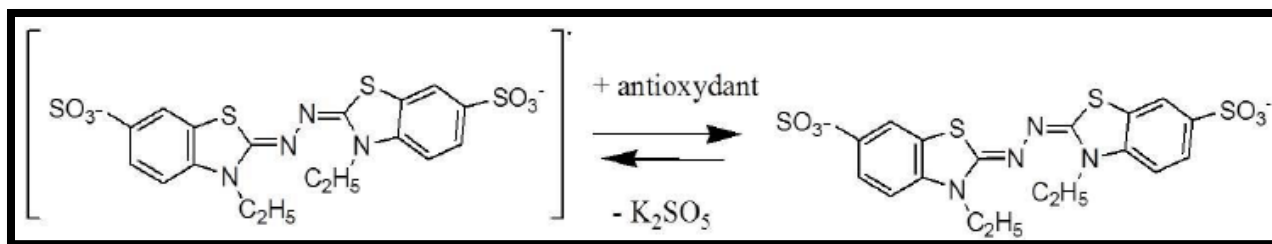


Figure 19 : La réaction chimique de l'ABTS. (adapter par Pannala et al. en 2011)

5.1.2. Préparation de la solution d'ABTS

Le radical $ABTS^{\bullet+}$ est produit par l'oxydation de l'ABTS (7 mM), par le persulfate de potassium (2,4 mM). Ces deux solutions ont été mélangées et conservées 16 heures à l'obscurité et à température ambiante. Le mélange obtenu a été dilué avec le méthanol afin de parvenir à une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm.

5.1.3. Procédure

Un volume de 160 μ l de la solution de l'ABTS a été ajouté à 40 μ l de la solution d'extrait dissout dans le méthanol à différentes concentrations, Après incubation 10 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 734 nm. Les tests sont pratiqués en triplicata.

Le pourcentage de l'activité anti radicalaire de l'ABTS a été calculé comme suit :

$$\% \text{ d' } inhibition = \frac{A \text{ control}}{A \text{ extrait}} * 100$$

5.2. Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

5.2.1. Principe du teste

Cette méthode a été développée par **Apak et al en 2004**. Le Test de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC (cuivrique Réduire Antioxydant Capacity) est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisée pour une grande variété de polyphénols, y compris les acides phénoliques, les acides hydroxy cinnamiques, flavonoïdes, les caroténoïdes, les anthocyanines, ainsi que pour des thiols et les antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (**Özyürek et al, 2011**).

Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$, produisant ainsi un complexe chromogène de $\text{Cu}^{+1}\text{-Nc}$ qui absorbe à 450 nm.

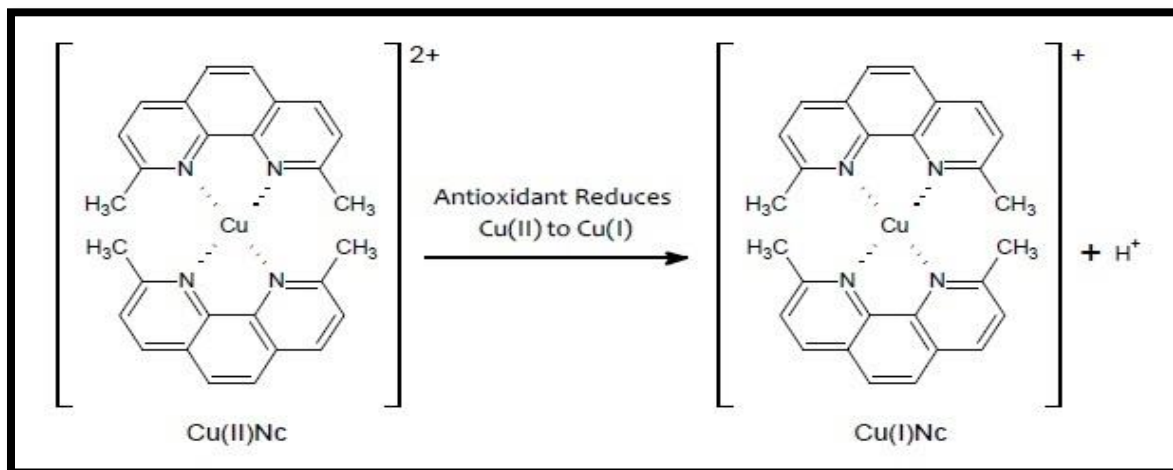


Figure 20 : Réduction du complexe chromogène de $\text{Cu}^{+2}\text{-Nc}$.

Le protocole de dilution des extraits et du standard (BHA) et celui utilisé pour l'activité ABTS.

5.2.2. Procédure

Dans une plaque de 96 puits, 40 μL de l'extrait ont été ajoutés à 60 μL de tampon acétate d'ammonium (1M, PH=7), 50 μL de Néocuproïne (7,5 mM) et 50 μL de CuCl_2 (10 mM).

Le mélange est incubé durant une heure du temps, l'absorbance a été enregistrée à 450 nm, à l'aide d'un lecteur de microplaque. Les résultats de l'activité antioxydant ont été calculés à titre de A0.5 ($\mu\text{g}/\text{mL}$).

6. Analyses statistiques

Les résultats de tous les tests sont exprimés en moyennes \pm SD d'analyses en trois essais. Les valeurs de CI50 sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)].

Chapitre IV

Résultats et discussion

1. Rendement des extraits

Après extraction et récupération des extraits, leur rendement a été déterminé par rapport à 20 g pour l'algue verte et 40 g pour l'algue brune de matière végétale sec exprimé en pourcentage. Le tableau 13 résume le rendement et les caractéristiques des différents extraits récupérés.

Tableau 13: tableau de rendement de différents extraits.

Algue	Extrait	Aspect	Couleur	Masse	Rendement
Verte	Chloroforme	Huileux	Vert claire	1.20g	6
	Aqueux	Aqueux	Vert	1.30	6.5
	Méthanol	Huileux	Vert claire	0.78	3.9
Brune	Chloroforme	Huileux	Marron foncé	2.50	5.75
	Méthanol	Huileux	marron	1.78	4.45
	Aqueux	Aqueux	Marron	2.65	6.625

Dans cette étude, une valeur en rendement sec probablement plus élevée aurait pu être obtenue à partir de la même espèce d'algue étudiée mais prélevée en période hivernale. Ceci est confirmé par l'étude de (**Ghezzen, 2014**) qui a constaté après un suivi de l'évolution du rendement en extrait brut durant une année une diminution significativement plus faible en rendements bruts entre Janvier (11,235 %) et Avril (5,696 %) pour une même espèce d'algue rouge *Cystoseira stricta*.

Selon **Michel et al. (2012)**, le rendement des extractions par des solvants de polarité croissante dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire. De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination du rendement ainsi que la composition chimique des extraits préparés (**Tefiani, 2015**).

2. Phénols totaux

D'après les résultats et les observations obtenus, nous remarquons que la teneur en phénols totaux dépend de la variété du système de solvants d'extraction et du type d'extraction. **Figure 21** et **figure 22**.



Figure 21 : Microplaque de dosage phénolique.

En effet, indépendamment du système de solvants les résultats ont montrées que les extraits d'algue brune *Sargassum vulgare* (**Figure 22**), sont plus riche en phénols totaux et qui ont été obtenus avec une concentration décroissante et respectivement par macération de chloroforme 158,750 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$, aqueux 139,05 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$ et de méthanol 10.52 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$, alors que les extraits d'algue verte *Ulva lactuca* (**Figure 23**), avec le même système solvant, renferment moins de phénols dans les extraits suivant chloroforme 38.47 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$, méthanol 52.67 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$ et aqueux 9,47 $\mu\text{gEqQG}/\text{mg}$ (**Tableau 14**).

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduisent les possibilités de comparaison entre les études (**Trabelsi et al., 2010**).

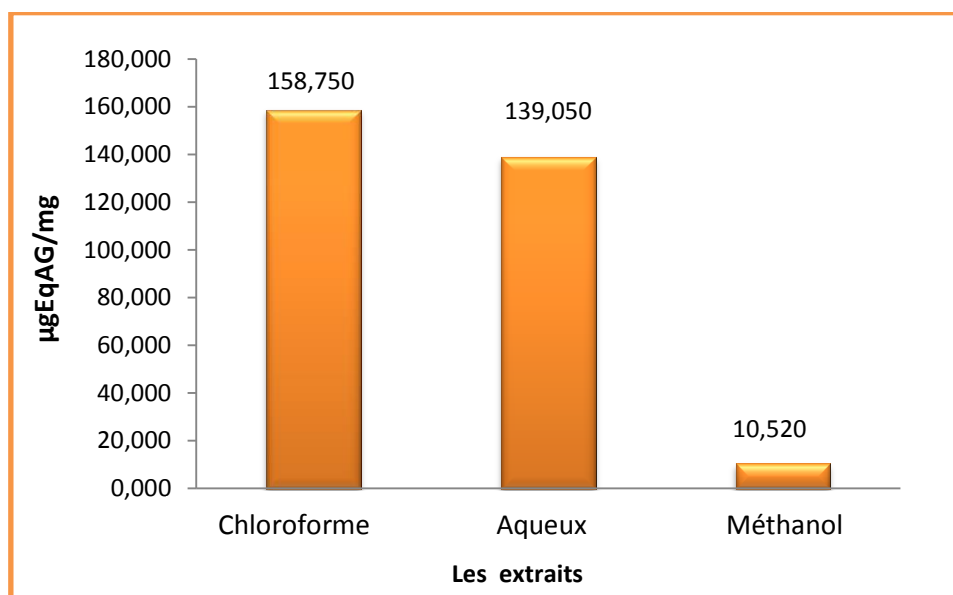
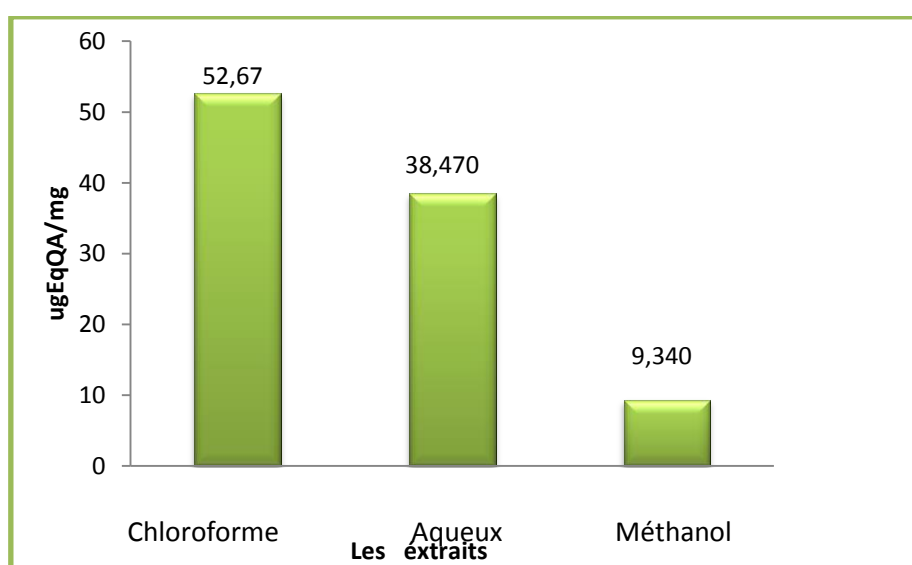
Nos résultats ne sont pas d'accord avec l'étude d'**Abdille et al., (2005)**, qui indique que les extraits algale méthanoliques sont les plus riches en composés phénoliques.

La rhodophycée *Gelidium sesquipedale* renferme une quantité importante de polyphénols qui est de l'ordre de 8,71 mg \pm 6,1 EAG / g de broyat (**Yassir, Benguedoar. et al., 2013**).

Les terpénoïdes phénoliques ont également été caractérisés chez les macroalgues brunes et rouges. Les algues brunes contiennent des méroditerpénoïdes (plastoquinones, chromanols, chromènes) trouvés presque exclusivement dans les Sargassaceae (**Reddy & Urban., 2009**).

Tableau 14 : résultats de dosage de phénols totaux.

Extraits	Chloroforme μgEqAG/mg	Aqueux μgEqAG/mg	Méthanol μgEqAG/mg
<i>Ulva Lactuca</i>	38,47	9,47	52,67
<i>Sargassum vulgare</i>	158,750	139,050	10.520

**Figure 22** : La teneur des phénols totaux dans l'algue brune *Sargassum vulgare*.**Figure 23** : La teneur des phénols totaux d'algue verte *Ulva Lactuca*.

3. Flavonoïdes totaux

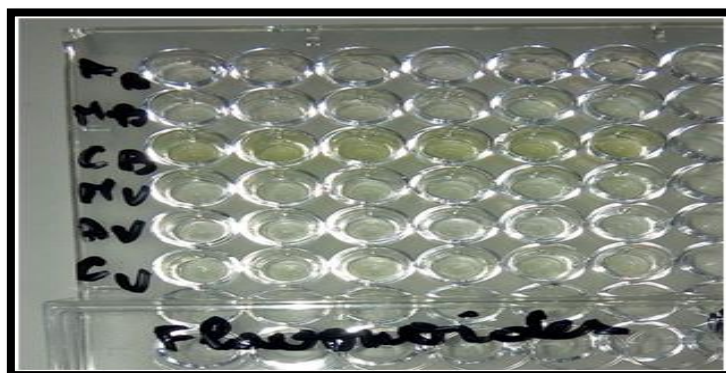


Figure 24 : Schéma de microplaque de dosage des flavonoïdes .

La teneur en flavonoïdes enregistrée dans nos étude rapporté que l'espèce *Ulva lactuca* (**Figure 25**) contiennent des teneurs variant entre (40.46 comme valeur maximal pour l'extrait de chloroforme et une valeur minimal de 4.39 $\mu\text{g EQ/mg}$ pour l'extrait de méthanol), l'espèce *Sargassum vulgare* (**Figure 26**) a des teneurs variant entre (8.85 pour l'extrait méthanolique et 3.99 $\mu\text{g EQ/mg}$ pour l'extrait aqueux). **Tableau 15** .

Il existe peu de travaux sur le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (**Meenakshi and Gnanambigai, 2009; Sava and Sirbu, 2010; Zeng et al., 2001**) mais, il est il existe de nombreuses études sur les flavonoïdes provenant de plantes terrestres, mais les informations sur la teneur en flavonoïdes des algues sont rares. Une étude récente sur la distribution des flavonoïdes chez 27 espèces d'algues marines (6 Chlorophyta, 11 Phaeophyta et 10 Rhodophyta) a montré qu'elles avaient une composition flavonoïde totalement différente des fruits et légumes (**Yoshie-Stark et al., 2003**). D'autres études ont signalé que les macroalgues sont riches en cathéchines, de flavonols. (**Heo et al., 2005**). Contrairement aux plantes terrestres, les anthocyanes et les flavones n'ont pas été trouvés dans les algues (**Stengel et al., 2011**).

Tableau 15 : résultats de dosage des flavonoïdes.

Extraits	Chloroforme $\mu\text{gEQ/mg}$	Aqueux $\mu\text{gEQ/mg}$	Méthanol $\mu\text{gEQ/mg}$
<i>Ulva Lactuca</i>	40.46	5.36	4.39
<i>Sargassum (vulgare)</i>	5.6	3.99	8.85

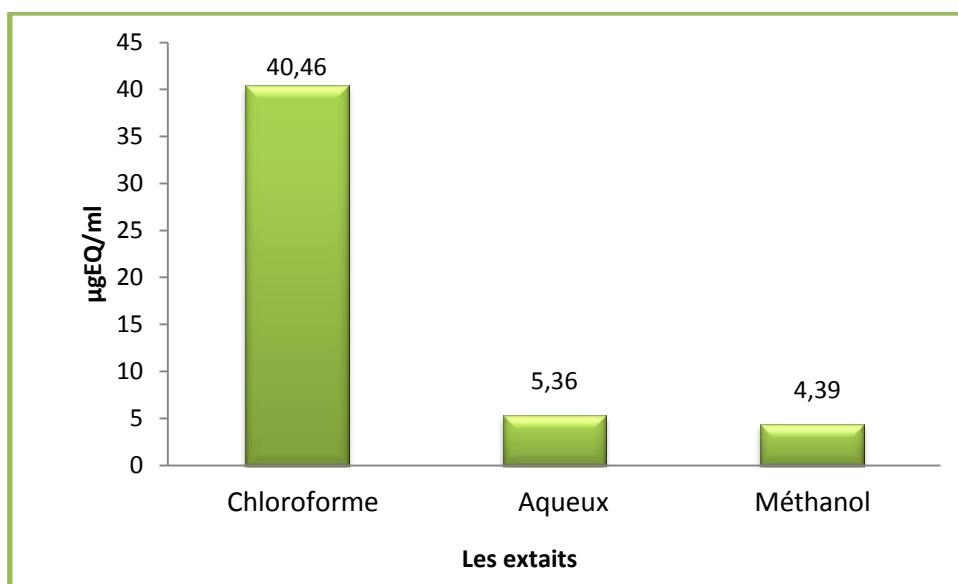


Figure 25 : La teneur en flavonoïdes totaux d'algue verte *Ulva Lactuca*.

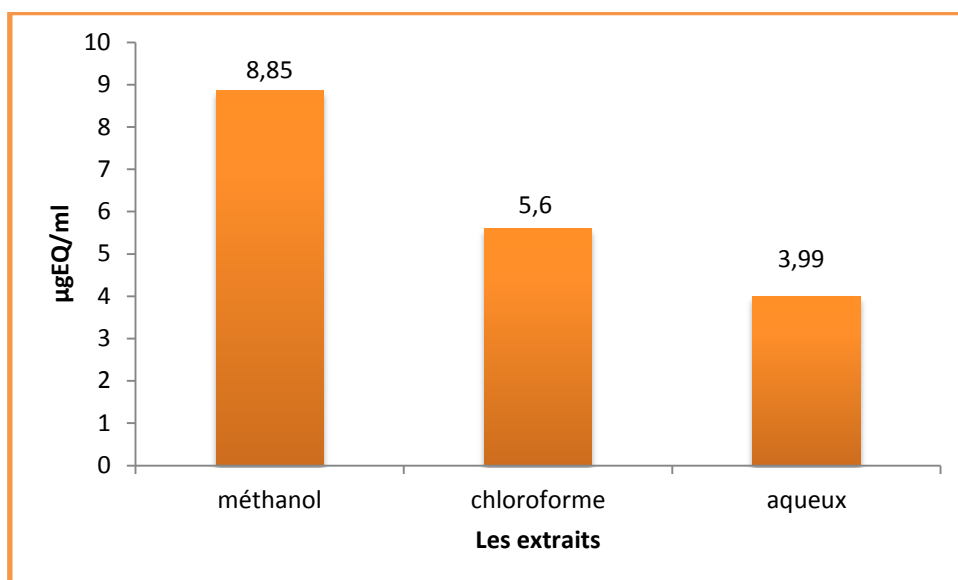


Figure 26 : La teneur en flavonoïdes totaux d'algue brune *Sargassum vulgare*.

4. Évaluation de l'activité antioxydante

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (Neghraoui, 2012).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits des deux algues est testée selon deux méthodes : piégeage des radicaux libres par le test ABTS, La réduction du complexe cuivre-neocuproéne (méthode CUPRAC).

4.1. Activité antiradicalaire par le test ABTS

L'activité antiradicalaire des extraits est également étudiée en utilisant le teste ABTS. Ce dernier réagit avec le persulfate de potassium pour donner le radical $ABTS^+$. La génération du radical avant l'ajout des extraits est nécessaire afin d'éviter l'interférence des composés dans la formation du radical ce qui conduit à une surestimation de la capacité antioxydante .(Katalinic et al., 2006).

L'ajout de l'extrait ou du BHA entraine une décoloration de la solution indiquant ainsi l'existence d'une activité antioxydante des échantillons. **Figure 27.**

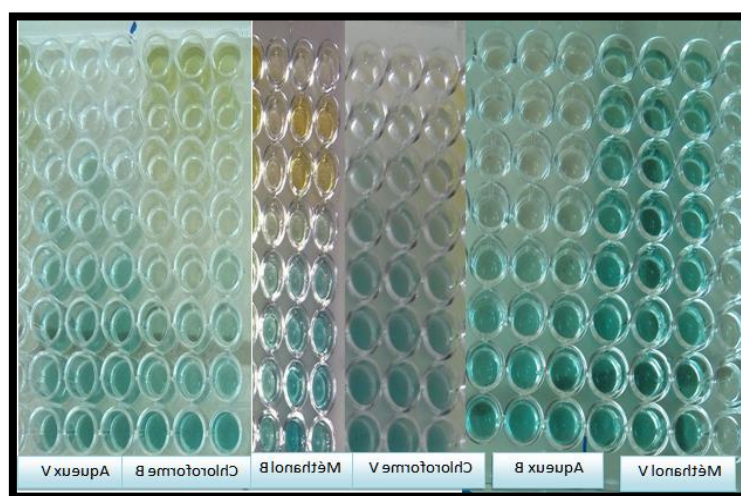


Figure 27: La microplaque de test d'activité antiradicalaire ABTS.

4.1.1. Algue verte *Ulva lactuca*

Le taux d'inhibition de l'ABTS est calculé en fonction des différentes concentrations des extraits issues à partir d'algue verte représenté par la **Figure 28.**

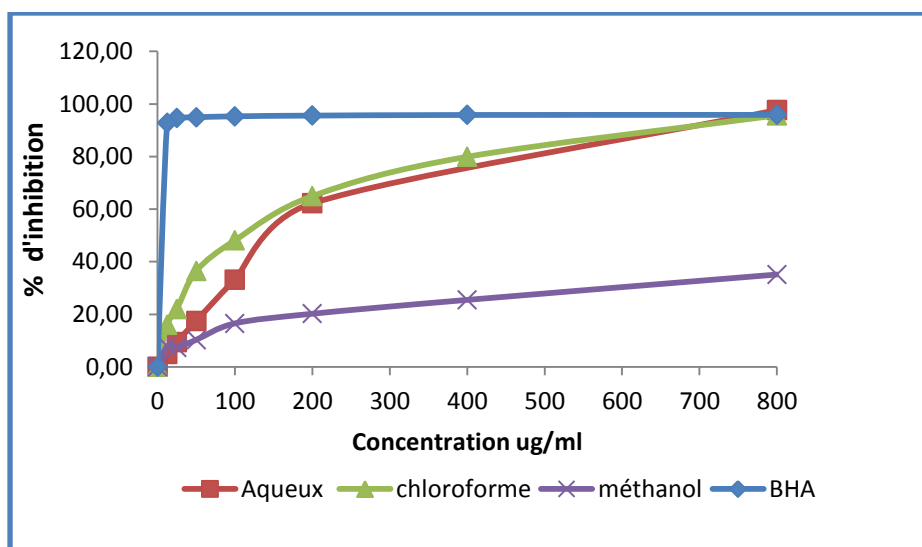


Figure 28 : Taux d'inhibition de l'ABTS par différents extraits d'algue verte *Ulva lactuca*.

La valeur de l'IC₅₀ exprimée en µg/ml a été déterminée à partir de la droite de régression de pourcentage d'inhibition en fonction concentration pour chaque échantillon **Figure 29**.

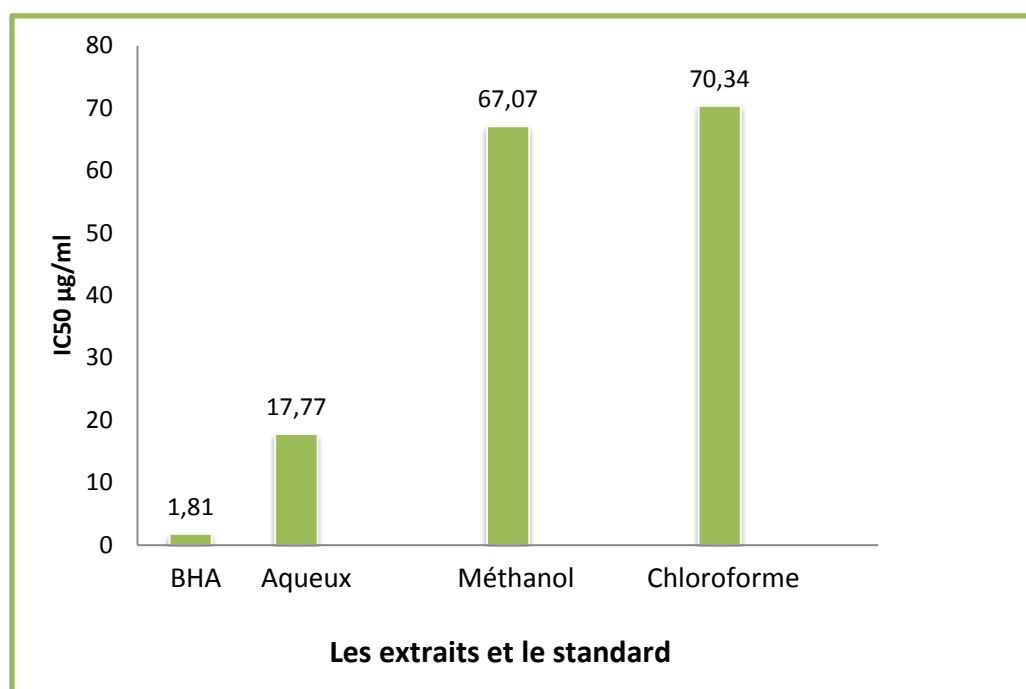


Figure 29 : IC₅₀ de l'algue verte l'*Ulva lactuca*.

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé (Une valeur plus faible de l'IC₅₀ indique une activité antioxydante plus élevée), car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. (**Kamal., 2015**).

Parmi les extraits testés, nos résultats révèlent que l'extrait aqueux est le plus actif avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre de 17.77µg/ml, suivi par les extraits méthanolique et chloroformique avec une valeur d'IC₅₀ plus proche de 67.07µg/ml et 70.34µg/ml respectivement.

L'activité antiradicalaire de l'extrait aqueux des algues vertes est 4 fois plus importante que celle de chloroforme et méthanol. Ceci est dû peut-être à la méthode d'extraction et aussi à la structure histologique de chaque espèce d'algues (membrane moins rigide).

Cette activité est inférieure à celle de la BHA qui présente une IC₅₀ égale à 1.81µg/ml.

4.1.2. L'algue brune *Sargassum vulgare*

Le taux d'inhibition est calculé en fonction des concentrations de chaque échantillon testé. Les résultats obtenus à partir des valeurs expérimentales nous permettent (**Figure 30**), ainsi de calculer les valeurs de l'IC₅₀ des différents extraits. **Figure 31**.

Schéma de la plaque de l'ABTS algue brune *Sargassum vulgare*

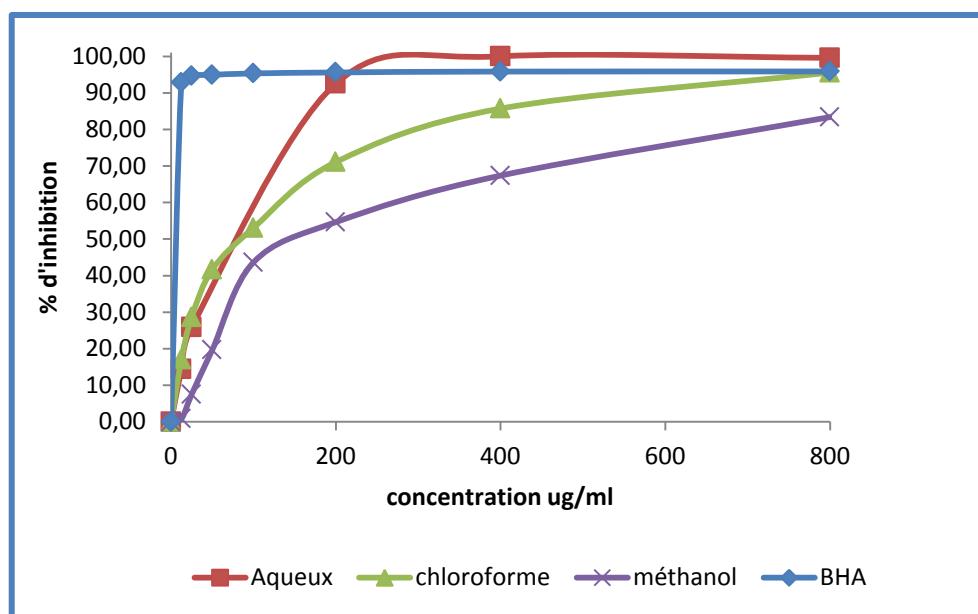


Figure 30: Taux d'inhibition de l'ABTS par différents extraits d'algue brune *Sargassum vulgare*.

Le taux d'inhibition est comparé avec le BHA des extraits aqueux est de 14.43% pour la concentration minimale (12,5 µg/ml) et un taux de 99.55% pour la concentration maximale 800µg/ml. La valeur d'IC₅₀ (55.87 µg/ml), a marqué une activité plus importante que celle d'extrait méthanolique et chloroformique et moins actif que le BHA 1.81µg/ml.

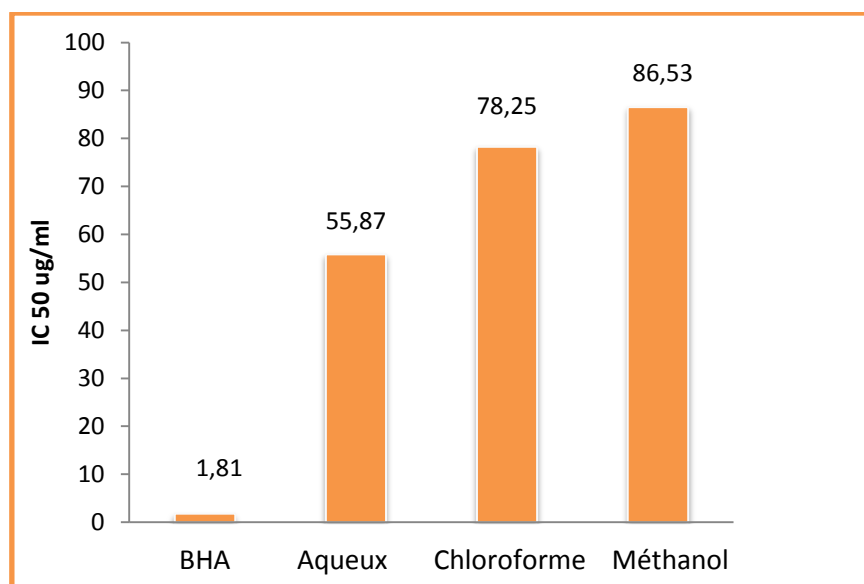


Figure 31: IC50 algue brune *Sargassum vulgare*.

Ces résultats ont montré nettement la richesse de nos échantillons testés en substances polyphénolique qui possèdent bien une propriété antioxydante intéressante.

Selon (**Prior et al.,2005**), il n'y a pas une méthode simple et universelle par laquelle l'activité antioxydante est évaluée qualitativement et quantitativement. La combinaison de plusieurs méthodes est nécessaire pour réaliser cette évaluation. Les flavonoïdes sont connus par leur capacité à induire la réaction de Fenton et limiter ainsi la production des EOR (**Engelmann, 2005**). Les résultats variables des activités antioxydantes des flavonoïdes seraient dus à leur structure et la présence des groupements hydroxyles (**Sharififar et al.,2008**).

Les antioxydants issus des plantes sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques : ils n'induisent pas d'effets secondaires alors que les antioxydants synthétiques sont génotoxiques (**Rohman et al., 2010**).

En conclusion, quantitativement et qualitativement, les algues vertes et brunes constituent une source substantielle d'antioxydants sachant que les brunes sont particulièrement riches en les caroténoïdes, les polyphénols et flavonoïdes. Un grand nombre d'études a démontré cette richesse et les propriétés antiradicalaires. (**Nakamura T, et al., 1996**).

4.2. Activité anti radicalaire évaluée par la réduction des ions de cuivre CUPRAC

Le principe de ce test se base sur la conversion des hydroxyles phénoliques en quinones à travers la réduction du complexe Cu_2^+ -Nc, produisant ainsi un complexe chromogène de Cu^+ -Nc qu'est absorbé à 450 nm.

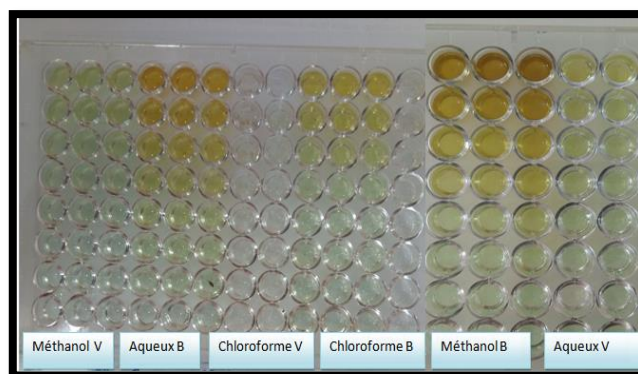


Figure 32: La microplaque de test CUPRAC.

Les valeurs IC_{50} sont déterminées à partir de la courbe d'absorbance en fonction de la concentration.

4.2.1. Algue verte *Ulva lactuca*

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire dans l'espèce algale *Ulva lactuca*, nous avons exprimé nos résultats par une courbe d'absorbance en fonction de la concentration de standard et des extraits étudiés. **Figure 33.**

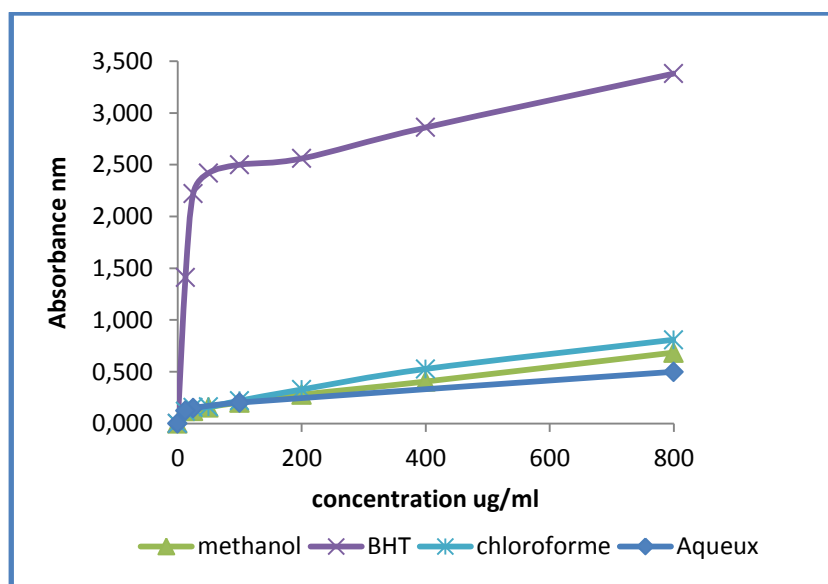


Figure 33: Taux d'inhibition de l'activité réductrice des ions de cuivre d'algue verte *Ulva lactuca*.

A partir de la **figure 33** on peut déduire que le BHT présente une activité réductrice maximale de cuivre 3.38 % pour une concentration de 800 µg/ml, par contre l'extrait chloroformique a montré une capacité de réduction de cuivre remarquable a 0,810 % par rapporte à celle du méthanol et du l'extrait aqueux qui sont comparable 0,686 % 0,50 %.

Les valeurs d'IC50 qui sont inversement proportionnelles à l'activité antioxydante concordent avec les résultats observés dans la **Figure 34**.

L'extrait chloroformique semble plus actif que l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux avec des valeurs d'IC50 qui passent de 336.91 µg/ml, 540.76 µg/ml et µg/ml 776 respectivement.

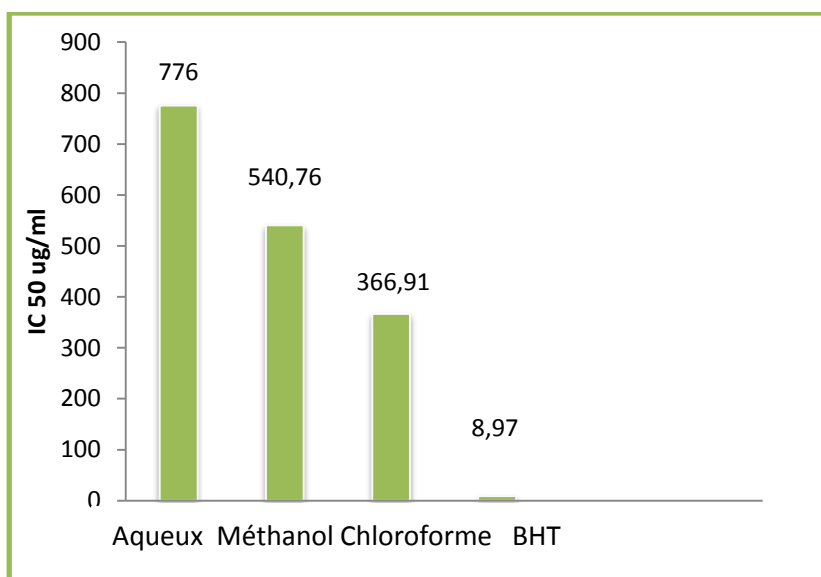


Figure 34 : IC50 algue verte *Ulva lactuca*.

4.2.2. Algue brune *Sargassum vulgare*

Les schémas présentés par les courbes d'absorbance en fonction de la concentration de standard **Figure 35**, et des extraits étudiés reflètent des résultats d'IC50 et traduites sous forme d'histogramme **Figure 36**.

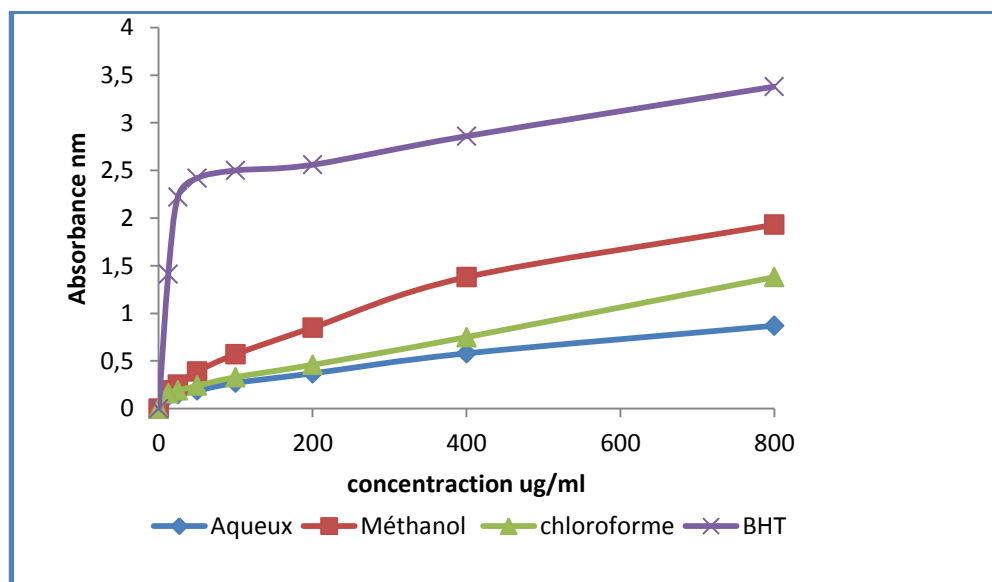


Figure 35: Taux d'inhibition de l'activité réductrice des ions de cuivre d'algue brune *Sargassum vulgare*.

Nous avons enregistré presque les mêmes taux d'inhibition pour les deux extraits : chloroformique 1.93 $\mu\text{g/ml}$ et aqueux 1.38 $\mu\text{g/ml}$ et respectivement, et une valeur de 0.87 $\mu\text{g/ml}$ pour l'extrait méthanolique.

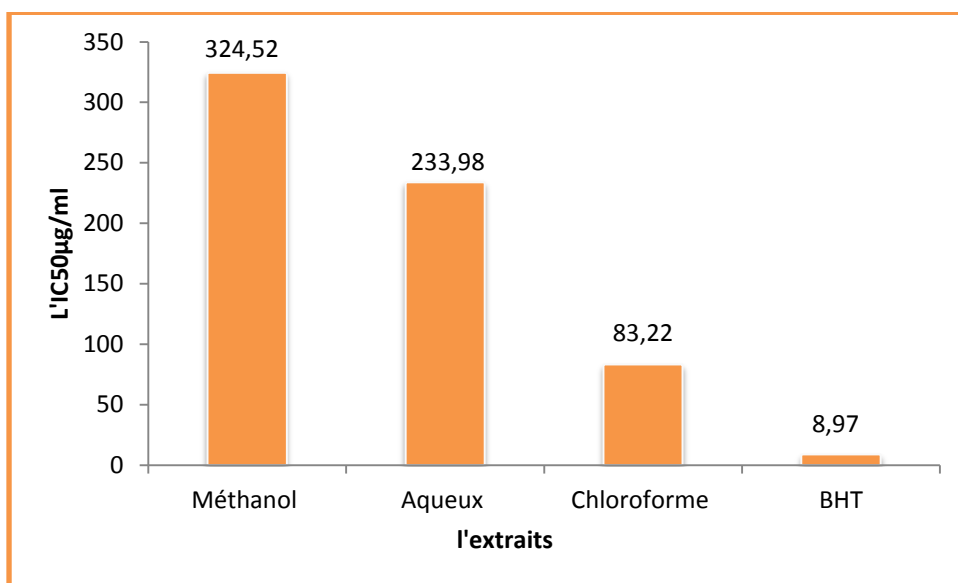


Figure 36 : IC50 d'algue brune *Sargassum vulgare*.

Les valeurs d'IC50 obtenue pour l'algue brune *Sargassum vulgare* sont variées d'un extrait à l'autre : l'extraits chloroformique a 83.22 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait aqueux à 233.98 $\mu\text{g/ml}$ et l'extrais méthanolique a 324.89 $\mu\text{g/ml}$.

De nombreux chercheurs soutiennent l'hypothèse d'une éventuelle relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques, décrivant ainsi les rapports probables quantité/activité et structure/activité entre eux (Djeridane et al., 2006 ; Balasundram et al., 2006 ; Cho et al., 2007 ; Hayouni et al., 2007). Es-Safi et al., (2007), ont montré au cours de leurs travaux effectués sur l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques composés isolés de *Globularia alypum* L. l'existence d'une relation entre le pouvoir antioxydant et la structure des composés phénoliques (position des groupements hydroxyles, degré d'hydroxylation du noyau aromatique et glycosylation de la molécule).

En conclusion, le pouvoir chélateur du cuivre augmente avec la concentration de l'échantillon aussi bien que chez l'algue brune *Sargassum vulgare*, que chez l'algue verte *Ulva lactuca*. Ce qui explique la richesse en phénols et en flavonoïdes totaux.

Conclusion

Conclusion

Les algues marines forment une source intéressante de substances biologiquement actives, telles que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les caroténoïdes et les polysaccharides, qui possèdent plusieurs activités biologiques.

Cette contribution a pour but de réaliser une étude phytochimique de l'algue verte *Ulva lactuca* et l'algue brune *Sargassum vulgare*, récoltées au niveau de la plage d'Oulad Bounar de la Wilaya de Jijel pendant le mois du mars 2018.

Ce travail a été consacré à la quantification des composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes), ainsi l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits (Aqueux, méthanolique et chloroformique) par deux tests l'ABTS et CUPRAC.

Les résultats obtenus de cette étude nous ont permis de conclure que :

- Le rendement le plus élevé est celui de l'algue brune *Sargassum vulgare* avec un pourcentage de 6.62%, et celle de l'algue brune et de 6.5% de l'algue verte l'*Ulva lactuca*.
- La quantification par des méthodes spectrophotométriques révèle une teneur élevée en phénols totaux dans l'extrait de l'ordre 158,750 µgEAG/mg d'algue brune *Sargassum vulgare* par rapport à l'algue verte *Ulva lactuca* de 52,67µgEAG/mg.
- Le dosage des flavonoïdes a montré un fort teneur pour l'*Ulva lactuca* à 40.46µgEAG/mg et un faible teneur pour *Sargassum vulgare* à 8.85µgEAG/mg.
- La meilleure activité du piégeage de radical ABTS a été obtenue dans l'algue l'*Ulva lactuca* de l'ordre de 100%, avec une valeur d'IC50 de 17,77µg/ml, et chez l'algue brune elle est de l'ordre de 90%, et un'IC50 de 55.87 µg/ml.
- Un faible pouvoir de réduction des complexes cuivre-neocuproéne (CUPRAC) a été obtenu chez les deux algues : *Sargassum vulgare* avec une faible valeur d'IC50 à 83,22µg/ml et chez l'*Ulva lactuca* avec une valeur d'IC50 de 366.91µg/ml.

À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail des tests antioxydants in vitro et in vivo, d'étudier d'autres activités biologiques à savoir les propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoire et antivirale et de caractériser les composés actifs dans les différents extraits testés de cette algue en vue d'identifier les molécules responsables de ces activités.

Bibliographie

Référence :

-Atkins, E.D., & Parker, K.D., (1969). The helical structure of a beta-1,3 xylan. *Journal of Polymer Science.* 28, 69-81.

-Assoumani MB (1997). AquaMin, a natural calcium supplement derived from seaweed. *Agro-Food-Industry Hi Tech:* 45-47.

-Bartling, D.R., Radzio, U., Steiner, E.W., (1993). Glutathione S-transferase with glutathione peroxidase activity from *Arabidopsis thaliana*. *Eur.-J.Biochem.* Vol 216: 579-586.

-Bartosz G., (2003). Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Commtoxicol;* 9: 5-21.

-Bonfont-Russelot D., Beaudoux JL. & Théron P., (2008). Marqueurs d'oxydation des biomolécules. In: Durand G., Beaudoux JL., editors. *Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives.* Paris. EMI. Lavoisier., 173-86.

-Cadet J., Bellon S., Berger M., Bourdat AG., Douki T., Duarte V., Frelon S., Gasparutto -D., Muller E., Ravanat JL. & Sauvaigo S., (2002). Recent aspects of oxidative DNA damage: guanine lesions, measurement and substrate specificity of DNA repair glycosylases. *Biol. Chem.*, 383 (6) : 933-43.

-Cai H. & Harrison DG., (2000). Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.*, 87 (10) : 840-4.

-Carocho, M., & Ferreira, I.C.F.R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology.* 51, 15– 25.

-CEVA., (2016).

-CEVA., (2014).

-Chanzy, H., (1990). Aspects of cellulose structure. *In:* Kennedy, J.F., Philips, G.O., Williams P.A. (Eds.). United States, New York, Ellis Harwood Ltd, p. 3-12.

- Chaudiere, J., and R. Ferrari-Iliou, 1999**, Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms: *Food Chem Toxicol*, v. 37, p. 949-62.
- ChemSources., (2009)**. *Chem Sources - Chemical Search*. Chemical Sources International. <http://www.chemsources.com/chemonline.html> and search on butylated hydroxyanisole. Last accessed: 8/20/09.
- Chen L., HU J.Y. and Wang S.Q., (2012)**. The rôle of antioxidants in photoprotection : a critical review. *Journal of American Academy of Dermatology*, 67(5), 1013-1024.
- Chouikhi A., (2013)**. Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites : Revue. USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities — Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems "CIPCA4" TAGHIT (Bechar) – Algeria.
- Chu W.Loy., and Phang S.M., (2016)**. Marine Algae as a Potential Source for Anti-Obesity Agents. *Mar. Drugs*. 14, 222 p.
- Collard J., (2003)**. Définition du stress oxydatif. Laboratoire Synlab, Belgique.
- Craigie, J.S., (1990)**. Cell walls. In: Cole, K.M., & Sheath, R.G. (Eds.) *Biology of the red algae*. United Kingdom, London, Cambridge University Press, p. 221-251.
- CRITCHLEY A.T., (1981)** Age determination of *Sarcrosum muticum* (Yendo) Fensholt. *3r. Phyc. J.* 16, 134.
- Darcy-Vrillon B., (1993)**. Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *Int J Food Sci Nutr* 44 (1 p. 1/4), S23-S35.
- Darley-Usmar, V., and B. Halliwell, 1996**. Blood radicals: reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system: *Pharm Res*, v. 13, p. 649-62.
- Deaton CHM, Marlin DJ., (2003)**. Exercise-associated oxidative stress. *Clin Tech Equine Pract*,; 2(3) : 278-91.
- Reviere B., (2002) Biologie et phylogénie des algues**. Tome 1 : cours. Ed Belin. Collection Belin Sup Sciences.
- Dulhunty, A.Gage, P.Curtis, S.bChelvanayagam, G. Board, P., (2001)**. The glutathione structural family includes a nuclear chloride channel and a ryanodine receptor calcium release channel modulator. *J Biol Chem*. Vol 276:3319-3323.

- Fan-jie Z, Zi-xuan Y, Li-jin J., (1984).** Isolation and characterization of R-phycoerythrin from *Polysiphonia aurata*. *Hydrobiologia* 116/117: 594-6.
- Favier A., (2003).** Le stress oxydant Interet conceptuel et experimental dans la comprehension des mecanismes des maladies et potentiel therapeutique. *L'act. chim.*, 11-12: 108-115.
- Fernandez-Canon, J.M. Penalva, M.A., (1998).** Characterization of a fungal maleylacetoacetate isomerase gene and identification of its human homologue. *JBiolChem*. Vol 273: 329-337.
- Finaud J, Lac G & Filaire E., (2006).** Oxidative stress : relationship with exercise and training. *Sports Med* 36, 327-358.
- Flora S.J., Mittal M. & Mehta A., (2008).** Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian. J. Med. Res.*, 128 (4) : 501-23.
- Fleurence, J., (1999).** Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 10, 25-28.
- Fleurence, J., & Guéant, J.L., (1999).** Les algues : une nouvelle source de protéines. *Biofutur*. 19, 32-36.
- Frank M. Faraci C; Sean P. Didion., (2004).** Vascular Protection Superoxide Dismutase Isoforms in the Vessel Wall. *Thrombosis and Vascular Biology*. Vol 24:1367.
- Fusco D, Colloca G, Lo Monaco MR, Cesari M., (2007).** Effects of antioxidant supplementation on the aging process. *Clin Interv Aging* ; 2(3) : 377-87.
- Garon-Lardiere S., (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
- Géraldine D., Céline L., (2009).** Les algues, le trésor de la mer, Haute école de santé Genève.
- Gérard-Monnier D. and Chaudière J. (1996).** Métabolisme et fonction antioxydante du glutathion. *Path. Biol.*, 44, 77-85.
- Getzoff, E.D. Tainer, I.A. Stempien, M.M. Bell, G. in Hallewell, R.A., (1989).** Evolution of Cu,Zn superoxide dismutase and the Greek key beta-barrel structural motif. *Proteins*. Vol 5 : 33-36.

- Gonzalez R, Rodriguez S, Romay C, et al., (1999).** Anti-inflammatory activity of phycoerythrin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacological Research* 39: 55-9.
- Hagerman, A.E., (2002).**
- Halliwell B. & Gutteridge JMC., (1989)** - Free Radicals in Biology and Medicine, Second edition. Clarendon Press, Oxford.
- Haslam, E., (1989).** Plant polyphenols. In: Haslam E (ed) Vegetable tannins. Cambridge University Press. pp.15-89.
- Holguin F. & Fitzpatrick A., (2010).** Obesity, asthma, and oxidative stress. *J. Appl. Physiol.*, 108(3): 754-759.
- IARC., (1986).** Butylated hydroxyanisole (BHA). In Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, vol. 40. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. pp. 123-159.
- Imlay JA. & Linn S., (1988).** - DNA damage and oxygen radical toxicity. *Sci.*, 240 (4857): 1302-9.
- Iriki, Y., Suzuki, T., Nisizawa, K., Miwa, T., (1960).** Xylan of siphonaceous green algae. *Nature*. 187, 82-83.
- Julie P., Danielle L., Daniel M., (2010).** Algues, filières du futur Livre Turquoise. Adebioitech. 163.
- Kehrer: J.P., (1993).** Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Citicat Reviews in Toxicology* 23,21-48.
- Kirkman, H.N. Rolfo, M. Ferraris, A.M. Gaetani, G.F., (1999).** Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *JBiolChem*. Vol 274:13908-13914.
- Kloareg, B., & Quatrano, R.S., (1988).** Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanography and Marine Biology: Annual Review*. 26, 259-315.
- Kumari P., Kumar M., Gupta V., Reddy C.R.K., and Jha B., (2010).** Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chem.*(3): 749–757 p.

- Lahaye M., (1991).** Marine-algae as sources of fibersdetermination of soluble and insoluble dietaryfiber contents in somevegetables. *J Sci Food Agric* ; 54 (4):587—94.
- LECLERC V., FLOC'H J.-Y. Les secrets des algues. [s.l.] : [s.n.], (2010).** (Carnets de sciences, ISSN 2110-2228).
- MacHugh DJ., (2003).** FAO Fischeriestechnicalpaper no 441.
- Marfaing H., (2017).** Les algues dans notre alimentation : Intérêt nutritionnel et utilisations. *Revue de nutrition pratique. Dietecom Bretagne. CEVA.* 1-9
- Mena S., Ortega A. and Estrela J. M., (2009).**Oxidative stress in environmental-inducedcarcinogenesis. *Mutation Research - GeneticToxicology and EnvironmentalMutagenesis*, 674(1-2), 36-44.
- Moller P, Wallin H &Knudsen LE., (1996).**Oxidative stress associatedwithexercise, psychological stress and life-style factors. *ChemBiollnteraet* 102, 17-36.
- Murrell, G., M. Francis, and L. Bromley., (1990).** Modulation of fibroblastproliferation by oxygen free radicals: *Biochem J*, v. 265, p. 659-65.
- Nakajima, K., Yokoyama, A., Nakajima, Y., (2009).** Anticancereffects of a tertiaryulfonium compound, dimethylsulfoniopropionate, in green seaalgae on Ehrlich ascites carcinoma-bearingmice. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology.* 55, 434-438.
- Nakajima K, Nakano T, Tanaka A., (2006).** The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis : The compa- rison of atherogeniceffects on oxidized LDL and rem- nant lipoproteins in plasma. *Clin Chim Acta*, 367, 36-47.
- Nakamura T, et al., (1996).**Antioxidantactivity of phloro tannins isolatedfome the brownalgaEiseniabicyclis. *Fish Sci* 62(6) :923-6.
- Naghraoui M., (2012).** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiinaofficinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid), Mémoire de fin d'études. 30.
- Nancy,J.Linford,S.I. chriner, E. Peter,S.Rabinovitch1.2006.** Oxidative Damage and Aging: Spotlight on Mitochondria .*Cancer Res*; 66: 2497-2499.

-Okuzumi J, Takahashi T, Yamane T, et al., (1993).Inhibitory effects of fucoxanthin, a natural carotenoid, on N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced mouse duodenal carcinogenesis. *Cancer Lett* 68: 159-68.

-PAUL O., (2006).

-Padula, Boiteux S., (1999) Photodynamic DNA damage induced by phycocyanin and its repair in *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32: 1063-71.

-Park P. J., Jung W. K., Nam K.S., Shahidi F. and Kim S. K., (2001) Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 78 (6), 651-656.

-Perosa A., Bordignon G., Ravagnan G., and Zinoviev S., (2015). Algae as a Potential Source of Food and Energy in Developing Countries. *Scienza et società*.

-Pierre M., (2013). Anne Noury Le Manuel du plancton. *Éditions Charles Léopold Mayer, Essai n° 195, Paris / France*.

-Percival, E., & McDowel, R., (1967). Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides. *In: Percival, E., & McDowel, R. (Eds.). United Kingdom, London, Academic Press, 219p.*

-Preston, R.D., (1974). Physical biology of plant cell walls. *In: Chapman & Hall (Eds.). United States, New York, Halsted Press, 491p.*

-Padula, Boiteux S., (1999). Photodynamic DNA damage induced by phycocyanin and its repair in *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32: 1063-71.

-Rahman K., (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Clin Interv Aging*, ; 2(2) : 219-36.

-Remirez D, Gonzalez A, Merino N, et al., (1999). Effect of phycocyanin in Zymosan-induced arthritis in mice-phycocyanin as an antiarthritic compound. *Drug Dev Res* 48: 70-5.

-Renuka B. Rajurkar, Z.H. Govind, T.G. 2003. Studies on levels of glutathione S-transferase, its isolation and purification from *Helicoverpa armigera*. *Current Science*. Vol. 85: 1355-1360.

- Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P., (1968).** Sciences et techniques du vin. Tome 1. Ed Dunod, Paris, 671p.
- Ribéreau-Gayon J., Peynaudm.,Ribéreau-Gayon P., and Sudraud P., (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome1, analyse et controle des vins. Ed Dunod, Paris, 671p.
- Roede J.R. and Jones D.P., (2010).**Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal. Environmental and Molecular Mutagenesis.
- Rossano, R., Ungaro, N., D'Ambrosio A., Liuzzi G.M., Riccio P., (2003).** Extracting and purifying Rphycoerythrin from Mediterranean red algae *Corallina elongata* Ellis & Solander. Journal of Biotechnology. 101, 289-293.
- Ruiz, G., (2005).** Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat, Chimie appliquée et chimie des substances naturelles, Université de Limoges, 230 p.
- Saad A, Virella G, Chassereau Ch, et al., (2006).** OxLDL immune complexes activate complement and induce cytokine production by MonoMac 6 cells and human macrophages. J Lipid Res, 47, 1975-1983.
- Schäfer, S. Kardinahl., (2003).** Iron superoxide dismutases: structure and function of an archaic enzyme. *Biochemical Society Transactions*. Vol 31:1330–1334.
- Sergent O, Griffon B, Cillard P, Cillard J., (2000).** Alcool et stress oxydatif. Pathol. Biol. 49: 689-695.
- Splingart D., (2013),** le règne végétal, [csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les algues](http://csakb.plongee.free.fr/Documents/bio/.les%20algues) Niveau1.
- Stahl W., (2005).**Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta* ; 1740(2): 101-7.
- Steinman, H. M. (1992).** Construction of an *Escherichia coli* K-12 strain deleted for manganese and iron superoxide dismutase genes and its use in cloning the iron superoxide dismutase gene of *Legionella pneumophila*. Vol 232, 427-430.
- Underwood, G.J.C., & Paterson, D.M., (2003).** The importance of extracellular carbohydrate production by marine epipelagic diatoms. *Advances in Botanical Research*. 40, 184-240.

- Ye-Shih, Ho. Ye, Xiong, Wanchao. Ma, Abraham. Spector, Dorothy, S. Ho., (2004).** Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. *Vol 279*: 32804–32812.
- Valko M, Rhodes CI, Moncol I, Izakovic M & Mazur M., (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 160, 1-40
- Wuerges, J.; Lee, J.W.; Yim, Y.I.; Yim, H.S.; Kang, S.O (2004).** DjinovicCarugo, K. Crystal structure of nickel-containing superoxide dismutase reveals another type of active site. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 8569–8574.
- Vainshtein, et al. 1986.** Three-dimensional structure of catalase from *Penicillium vitale* at 2.0 Å resolution. *J Mol Biol.* Vol 18: 49-61.
- Valk, E. E. J., & Hornstra, G., (2000).** Relationship between vitamin E requirement and polyunsaturated fatty acid intake in man: a review. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 70, 31-42.
- Vertuani S, Angusti A, Manfredini S., (2004).** The antioxidants and pro-oxidants network: an overview. *Curr Pharm Des*, 10: 1677-1694.
- Zastawny TH., Dabrowska M., Jaskolski T., Klimarczyk M., Kulinski L., Koszela A., Szczesniewicz M., Sliwinska M., Witkowski P. & Olinski R., (1998).** Comparison of oxidative base damage in mitochondrial and nuclear DNA. *Free. Radic. Biol. Med.*, 24 (5) : 722-5, 380-390.
- ZIELINSKI S., PORTNER H.-O., (2000).** Oxidative stress and antioxidant defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age? *Comp. Biochem. Physiol., Part B*, 125, 147-160.
- Zhihua, J. Elias, S.J.A. Ying, M. Linda, J. Jinming, S. Siqi, Z. Shujun, L. - Ruiying, W. Tianzhu, Z. Ganglin, Y. Junqiu, L. Jiacong, S. Guimin, L., (2004).** Expression of selenocysteine-containing glutathione S-transferase in *Escherichia coli*. *Biochem and Bioph Res Commun.* Vol 321:94–101

-Zou Y, Qian ZL, Li Y, Kim MM, Lee SH & Kim SK., (2008).Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishigeoakamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems. *J Agric Food Chem.*

Résumé

L'objectif de cette étude est de quantifier les teneurs des composés phénoliques et les flavonoïdes de différents extraits du de types d'algues brune et verte récoltée du littoral Est-Algérien (Ouled Bounar Jijel) : extrait aqueux, méthanolique et chlorformique ainsi que l'évaluation de l'activité antiradicalaire de ces extraits par deux méthodes l'ABTS et CUPRAC.

Les résultats obtenus ont montré que :

- Le meilleur rendement est celui de l'espèce *Sargassum vulgare* retenue a partir de l'extrait aqueux (6.625 ± 4.45 %).
- Les teneurs en phénols totaux de l'algue brune *Sargassum vulgare* sont les meilleurs ($158,750 \pm 10.520$ $\mu\text{gEqAG/mg}$).
- L'*Ulva lactuca* est l'algue la plus riche en flavonoïdes de l'ordre de ($40.46 \pm 4,39$ $\mu\text{gEQ/mg}$).
- Le pouvoir anti radicalaire le plus remarquable dans notre étude évalué par le teste ABTS est celui de l'algue verte *Ulva lactuca* avec un IC50 de l'ordre de (17.77 ± 70.34 $\mu\text{g/ml}$), et une Activité antioxydante testé par la réduction du complexe cuivre-neocuproéne (méthode CUPRAC) pour l'algue brune *Sargassum vulgare* avec un IC50 de l'orde de (83.22 ± 324.89 $\mu\text{g/ml}$).

Ce pouvoir antioxydant peut être dû à la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans les deux espèces, ce qui incite l'étude in vivo de l'effet des extraits de ces algues sur le stress oxydatif.

Mots clés : algue brune, algue verte, activité antiradicalaire, polyphénols, flavonoïdes.

تلخيص:

إن الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص كمية الفينولات و الفلانونيدات من الطحالب البحرية البنية و الخضراء المستخرجة من الساحل الشرقي الجزائري اولاد بو النار جيجل : المستخلص المائي و الميتانولي و الكلور فورمي و كذلك تقييم نشاطها المضاد للاكسدة ب طريقتين: ABTS et CUPRAC

النتائج المتحصل عليها تؤكد ان:

✓ افضل عائد يعود الى نوع الطحلب البني *Sargassum vulgare* في المستخلص المائي (6.625 ± 4.45 %).

✓ افضل مردود للفينولات هو ذلك المتواجد في الطحلب البني *Sargassum vulgare* بالترتيب ($158,750 \pm 10.520$ $\mu\text{gEqAG/mg}$)

✓ الطحلب الاخضر *Ulva lactuca* يحتوي على الكمية اكبر من الفلافونويدات. (40.46 ± 4.39 $\mu\text{gEQ/mg}$).

✓ اكبر قوة مضادة للاكسدة توجد في الطحلب الاخضر *Ulva lactuca* باستعمال الطريقة هي الخاصة ABTS بقيمة (17.77 ± 70.34 $\mu\text{g/ml}$), اما طريقة CUPRAC فان اكبر قيمة متواجدة في الطحالب البني *Sargassum vulgare* بالترتيب.. (83.22 ± 324.89 $\mu\text{g/ml}$)

إن القوة المضادة للاكسدة راجعة الى تواجد الفلافونويدات و الفينولات في كل من الطحلبين البني و الاخضر و هذا ما يتطلب دراسة اعمق تأثير مستخلصات الطحالب على الاكسدة

Abstract

The objective of this study is to quantify the levels of phenolic compounds and flavonoids of various extracts of the types of brown and green algae harvested from the East-Algerian coast (Ouled Bounar Jijel): aqueous extract, methanol and chloroform as well as the evaluation of the antiradical activity of these extracts by two methods, ABTS and CUPRAC.

The result obtained shows that:

- The best yield is *Sargassum vulgare* selected from the aqueous extract ($6.625 \pm 4.45\%$).
- The total phenol contents of the brown alga *Sargassum vulgare* are the best ($158,750 \pm 10,520 \mu\text{gEqAG} / \text{mg}$).
- *Ulva lactuca* is the richest algae in flavonoids of the order of ($40.46 \pm 4.39 \mu\text{gEQ} / \text{mg}$).
- The most remarkable anti-radical power in our study evaluated by the ABTS test is that of the green alga *Ulva lactuca* with an IC₅₀ of the order of ($17.77 \pm 70.34 \mu\text{g} / \text{ml}$), and an antioxidant activity in the brown alga *Sargassum vulgare* tested by the reduction copper-neocuproene complex (CUPRAC method) with an IC₅₀ of ($83.22 \pm 324.89 \mu\text{g} / \text{ml}$).

This antioxidant power may be due to the presence of polyphenols and flavonoids in both species, which encourages the in vivo study of the effect of extracts of these algae on oxidative stress.

Key words: brown algae, green algae, antiradical activity, polyphenols, flavonoids.