



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 : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie, Option : Biotechnologie des Mycètes : Fermentation et production  
de substances fongiques

Intitulé :

---

# Etude des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique d'extraits d'algues marines d'origine Algérienne

---

Présenté et soutenu par : KARDACHE Amina  
KHOUALDI Yousra

Le : 23/06/2016

**Jury d'évaluation:**

**Président:** Mr. DEHIMAT Laid      Professeur. Univ Des Frères Mentouri Constantine

**Encadreur:** Mme. ZITOUNI Hind      Maitre Assistant B. Univ Des Frères Mentouri Constantine

**Examinatrice:** Mme. YUCEF Ali Mounia      Maitre de Conférences B. Univ. Des Frères Mentouri Constantine

*Année universitaire  
2015 - 2016*



## ***Remerciements***

*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 modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadreur Mme ZITOUNI Hind, Maitre Assistant B à l'Université des Frères Mentouri Constantine, qui a accepté de nous encadrer et de diriger ce travail. Nous la remercions pour sa patience, son aide très précieuse et ses corrections sérieuses.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à Monsieur DEHIMAT Laid, Professeur à l'Université des Frères Mentouri Constantine, pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Un grand merci à Mme YOUCEF ALI Mounia, Maitre de Conférences B à l'Université des Frères Mentouri Constantine, qui nous fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier tous les étudiants de notre promotion (2015-2016) et particulièrement REHAMNIA BARAA pour son aide à l'échantillonnage de l'algue.*

*Un grand merci à tous nos enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et particulièrement nos enseignants de spécialité, Biotechnologie Fongique.*

*Nos remerciements vont également à tous les techniciens des laboratoires pédagogiques de Biochimie et Microbiologie de L'université des Frères Mentouri Constantine.*

*Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

***Yousra et Amina***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail*

*A Mon adorable mère pour son soutien et ses encouragements: Merci  
maman*

*Mon cher père pour ses sacrifices, ses conseils et ses encouragements*

*Ma sœur unique **Nour El Houda** (je t'aime beaucoup)*

*Mes frères (**Mostapha, Tarek et Sofian**)*

*A toute la famille **Khoualdi et Kimouche***

*Tous mes proches*

*A mon binôme **Amina***

*Mes amis et camarades de promotion*

*A tous ceux que j'aime*

***Yousra***

*Je dédie ce travail*

*A mes chers parents, ma sœur, mon frère, et à ma petite nièce **Hana***

*A tous mes cousins et cousines*

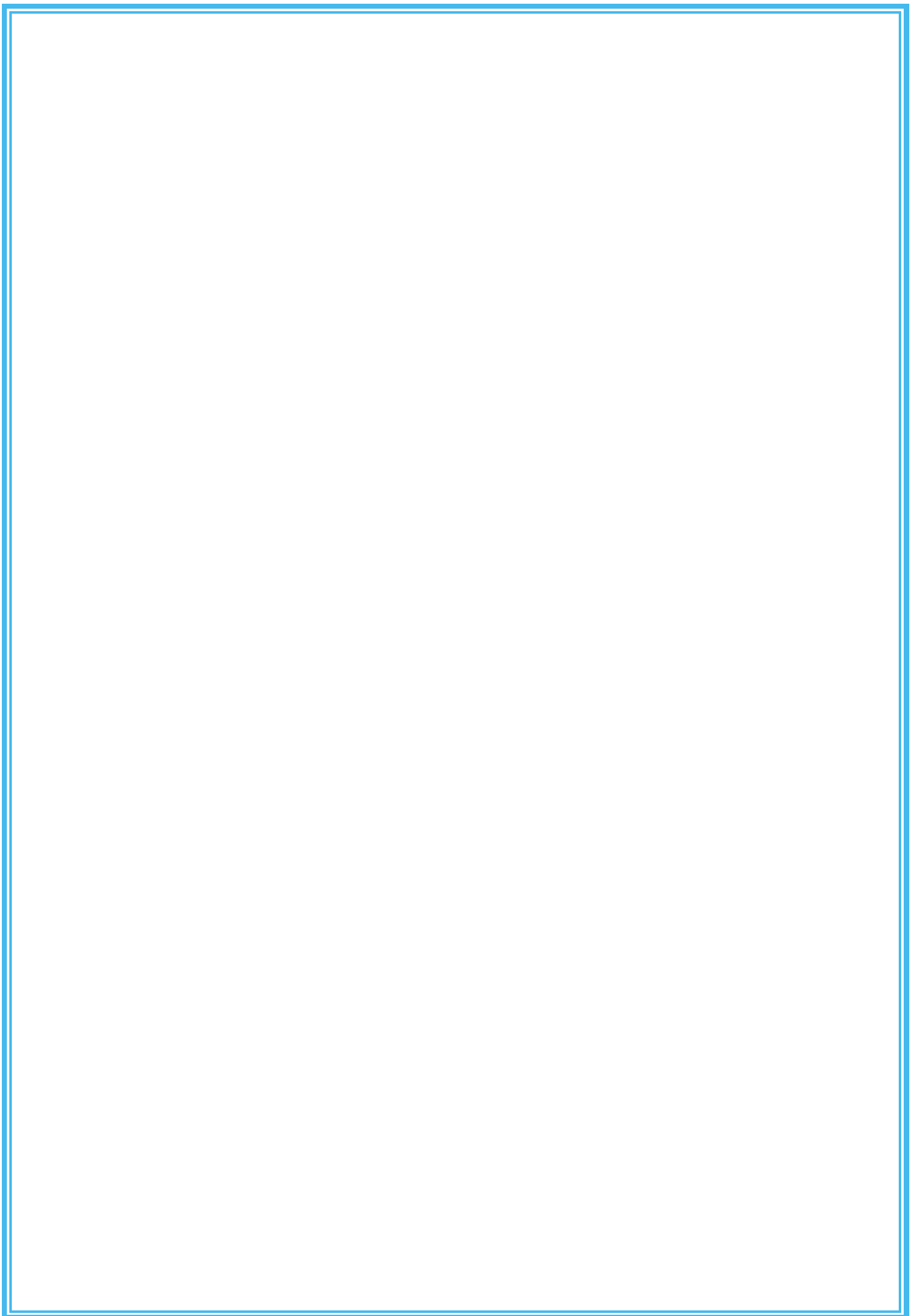
*A toute la famille **kardache et Ait belkacem***

*A mon binôme **Yousra***

*A tous mes camarades de promotion*

*Et à toi tonton **Idir** repose en paix très cher oncle*

***Amina***



# Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie 01 : Généralités sur les algues marines, leurs caractéristiques chimiques et leurs applications.....</b>	<b>3</b>
I. Définition.....	3
II. Classification.....	3
II.1. Les Chlorophycées.....	4
II.2. Les Phéophycées.....	5
II.3. Les Rhodophycées.....	5
II.4. Les Cyanobactéries.....	6
III. Habitat et conditions de vie.....	6
III.1. Habitat des algues.....	6
III.2. Conditions de vie des algues.....	7
III.2.1. La lumière, condition essentielle.....	7
III.2.2. Le substrat (ou support).....	7
III.2.3. Les facteurs hydrodynamiques.....	7
III.2.4. La température.....	7
III.2.5. La salinité de l'eau.....	8
IV. Caractéristiques des macroalgues.....	8
IV.1. Mode de reproduction des algues.....	8
IV.1.1. Reproduction asexuée.....	8
IV.1.2. Reproduction sexuées.....	9
V. Composition chimique des algues.....	9
V.1. Les éléments minéraux.....	9
V.2. Les lipides.....	9
V.3. Les protéines.....	10
V.4. Les vitamines.....	10
V.5. Les caroténoïdes.....	10
V.6. Les polysaccharides.....	10
V.7. Les fibres.....	10
VI. Les métabolites secondaires des algues.....	11
VI.1. Les composées phénoliques (polyphénols).....	11
VI.2. Les flavonoïdes.....	11
VI.3. Les tannins.....	12

VI.4. Les isoprénoides (Terpénoides).....	13
VI.5. Les alcaloïdes.....	13
VII. Utilisations des algues.....	13
VII.1. Alimentation humaine.....	13
VII.2. Fourrages.....	14
VII.3. Engrais.....	14
VII.4. Le traitement des eaux usées.....	14
VII.5. Dans le domaine pharmaceutique et médical.....	14
VII.6. Les Agents antiviraux.....	15
<b>Partie 02 : Activités antioxydantes et antimicrobiennes.....</b>	<b>15</b>
I. Activités antioxydante.....	15
I.1. Antioxydants.....	15
➤ Antioxydants endogènes.....	15
➤ Antioxydants exogènes.....	16
I.2. Activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	16
II. Activités biologiques.....	16
II.1. Activité antifongique.....	16
II.1.1. <i>Aspergillus sp</i> .....	16
➤ Pouvoir pathogène.....	17
II.2. Activité antibactérienne.....	17
II.2.1. <i>Escherichia coli</i> .....	17
➤ Pouvoir pathogène.....	17
II.2.2. <i>Bacillus cereus</i> .....	18
➤ Pouvoir pathogène.....	18
II.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
➤ Pouvoir pathogène.....	18
II.2.4. <i>Klebsiella sp</i> .....	18
➤ Pouvoir pathogène.....	19
<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>20</b>
I. Préparation de l'échantillon.....	20
I.1. Zone d'échantillonnage.....	20
I.2. Identification de l'algue.....	21
I.3. Conservation de l'échantillon.....	22
II. Etude de métabolites secondaires.....	23
II.1. Préparation de l'extrait brut.....	23
II.2. Calcul des rendements des extraits secs.....	24
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	24
II.3.1. Dosage des phénols totaux.....	24
➤ Principe.....	24
➤ Mode opératoire.....	25
II.3.2. Dosage des tanins totaux.....	25

II.3.3. Dosage des flavonoïdes.....	25
III. Evaluation de l'activité antioxydante.....	25
III.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	25
➤ Principe.....	25
➤ Mode opératoire.....	26
III.2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	27
IV. Etude des activités antimicrobiennes.....	27
IV.1. Etude de l'activité antifongique.....	28
A. Méthode des disques mycéliens.....	28
B. Méthode de diffusion par disques en milieu solide.....	28
IV.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	28
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>30</b>
I. Rendement en extrait brut.....	30
II. Dosage des composés phénoliques.....	30
III. Pouvoir antioxydant.....	33
III.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	33
➤ Evaluation de l'IC50.....	35
III.2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	36
IV. Activités antimicrobiennes.....	36
IV.1. Activité antifongique.....	36
IV.2. Activité antibactérienne.....	39
➤ <i>Escherichia coli</i> .....	40
➤ <i>Klebsiella sp.</i> .....	41
➤ <i>Bacillus cereus</i> .....	42
➤ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	42
➤ Comparaison des diamètres des zones d'inhibition des quatre souches bactérienne testées.....	44
<b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>49</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Résumés</b>	





## Liste des abréviations

**[C]:** Concentration

**°C:** Degré Celsius

**CAT:** Capacité antioxydante totale

**DO:** Densité optique

**DPPH:** Radical 2.2 diphényle-1-picrylhydrazyl

**EAG :** Equivalent d'acide gallique

**EAA:** Équivalent d'acide ascorbique

**EA:** Équivalent d'acide gallique

**EQ:** Équivalent de quercitine

**g:** Gramme

**h:** Heure

**IC50 :** Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

**L:** Litre

**M:** Masse

**Mg:** Milligramme

**min:** Minute

**mL:** Millilitre

**mm :** Millimètre

**MS :** Matière sèche

**m/v:** Masse/Volume

**nm:** Nanomètre

**µl:** Microlitre

**UV:** Radiations ultra-violettes

**V:** Volume

## Liste des figures

<b>Figure 01:</b> Structure des phlorotannins.....	11
<b>Figure 02:</b> Structure de base des flavonoïdes.....	12
<b>Figure 03:</b> Structure de quelques tanins.....	12
<b>Figure 04 :</b> Localisation géographique du site de l'échantillonnage d' <i>Ulva lactuca</i> (Annaba).....	20
<b>Figure 05:</b> Localisation géographique du site de l'échantillonnage d' <i>Ulva lactuca</i> (Alger)...	20
<b>Figure 06:</b> <i>Ulva lactuca</i> .....	22
<b>Figure 07:</b> Etapes de préparation de l'échantillon.....	23
<b>Figure 08:</b> Evaporateur rotatif de type BUCHI R-210.....	24
<b>Figure 09:</b> Forme libre et réduite du DPPH.....	26
<b>Figure 10:</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	31
<b>Figure 11:</b> Courbe d'étalonnage de quercitine pour le dosage des flavonoïdes.....	31
<b>Figure 12 :</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique.....	34
<b>Figure 13 :</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait brut méthanolique d' <i>Ulva lactuca</i> .....	35
<b>Figure 14: A:</b> <i>Aspergillus niger</i> incubé avec 40 µl d'extrait méthanolique d' <i>Ulva lactuca</i> (50 µg/µl), <b>B:</b> <i>Aspergillus niger</i> incubé avec 40 µl de méthanol (témoin positif).....	38
<b>Figure 15: A:</b> <i>Aspergillus flavus</i> incubé avec 40 µl d'extrait d' <i>Ulva lactuca</i> (50 µg/µl), <b>B:</b> <i>Aspergillus flavus</i> incubé avec 40 µl de méthanol (témoin positif).....	38
<b>Figure 16: A :</b> Effet de 40 µl d'extrait méthanolique d' <i>Ulva lactuca</i> sur <i>Aspergillus niger</i> , <b>B :</b> Effet de 40 µl d'extrait méthanolique d' <i>Ulva lactuca</i> sur <i>Aspergillus flavus</i> .....	39

<b>Figure 17:</b> Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i> contre <i>Escherichia coli</i> (60µl d'extrait).....	<b>40</b>
<b>Figure 18:</b> Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait <i>Ulva lactuca</i> contre <i>klebsiella.sp</i> (60µl d'extrait).....	<b>41</b>
<b>Figure 19:</b> Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait <i>Ulva lactuca</i> contre <i>Bacillus cereus</i> (60µl d'extrait).....	<b>42</b>
<b>Figure 20:</b> Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait <i>Ulva lactuca</i> contre <i>Staphylococcus aureus</i> (60µl d'extrait).....	<b>42</b>
<b>Figure 21:</b> Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction de l'extrait d' <i>Ulva lactuca</i> testé sur quatre bactéries.....	<b>44</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Caractéristiques importantes des groupes d'algues.....	<b>04</b>
<b>Tableau 02</b> : Caractéristiques botaniques et phénotypiques de l'algue marine <i>Ulva lactuca</i> .....	<b>21</b>
<b>Tableau 03</b> : Champignons utilisés pour les tests antifongiques.....	<b>27</b>
<b>Tableau 04</b> : Bactéries utilisées pour les tests antibactériens.....	<b>27</b>
<b>Tableau 05</b> : Liste des antibiotiques testés sur les bactéries.....	<b>29</b>
<b>Tableau 06</b> : Teneurs en phénols totaux, en tanins totaux et en flavonoïdes de l'extrait brut d' <i>Ulva lactuca</i> .....	<b>32</b>
<b>Tableau 07</b> : Le pourcentage d'inhibition de l'extrait brut méthanolique en parallèle d'acide ascorbique.....	<b>34</b>
<b>Tableau 08</b> : Effet des extraits d' <i>Ulva lactuca</i> sur deux espèces de champignons <i>Aspergillus niger</i> et <i>Aspergillus flavus</i> .....	<b>37</b>
<b>Tableau 09</b> : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait d'algue ( <i>Ulva lactuca</i> ).....	<b>40</b>
<b>Tableau 10</b> : Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques sur les bactéries testées.....	<b>45</b>

# *Introduction*

Le milieu marin et les organismes qui l'habitent constituent une source infinie de molécules actives à structure chimique originale (Glombitza *et al.*, 1979; Smit, 2004). Ces composés sont synthétisés par des voies métaboliques différentes de celles observées en milieu terrestre. Parmi les organismes marins, les algues, qui sont le plus souvent fixées sur un substrat, élaborent des défenses chimiques pour empêcher leur colonisation par d'autres espèces, y compris les micro-organismes (Paul et Fenical, 1987; Steinberg et Schneider, 1997).

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connues que les plantes terrestres et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque (Person *et al.*, 2010). Environ 6000 espèces d'algues ont été identifiées et sont regroupées en différentes catégories à savoir les algues vertes (Chlorophytes), brunes (Phéophytes) et rouges (Rhodophytes).

L'utilisation des algues marines à des fins thérapeutiques est loin d'être un phénomène nouveau. Si les principes actifs extraits d'algues utilisés en pharmacie sont peu nombreux, les travaux scientifiques en cours sont importants. Des milliers de molécules ont ainsi été identifiées. Ce sont des polysaccharides, des lipides ou encore de petits métabolites de nature phénolique (Deslandes *et al.*, 2000) ou terpénique (Fleury *et al.*, 1994; Ravi *et al.*, 1982).

Les activités décrites et associées aux algues marines sont très diverses: antimicrobiennes (Reichelt *et al.*, 1984; Etahiri *et al.*, 2007) anti-malariales (Wright *et al.*, 1997) antioxydantes (Etahiri *et al.*, 2001 ; Zubia *et al.*, 2007), anti-inflammatoires (Etahiri *et al.*, 2004), cytotoxiques (Ktari et Guyot, 1999), antivirales (Cacamesse *et al.*, 1980) ainsi que d'autres activités.

Etant donné le large éventail d'activités associées aux algues marines particulièrement antioxydantes et antimicrobiennes, et face à l'apparition de formes résistantes de plusieurs bactéries à certains antibiotiques, la recherche de nouvelles molécules actives est devenue une nécessité. Ainsi, l'exploration du milieu marin Algérien dans ce sens pourrait être d'un grand intérêt. C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail de recherche dont l'objectif est d'étudier l'effet de l'extrait brut d'une algue verte marine Algérienne sur les activités antioxydante, antibactérienne et antifongique.

Le présent travail est organisé en plusieurs parties:

- Une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre travail est réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les algues et éventuellement leurs pouvoirs antioxydants et antimicrobiens.
- La deuxième partie de notre étude, illustre le matériel biologique utilisé et les méthodes d'étude et d'expression des résultats.
- Dans la troisième partie, les résultats sont exposés et discutés en les comparant à ceux publiés dans la littérature scientifique internationale.

L'étude est achevée par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir.

# *Synthèse bibliographique*



## **Partie 01 : Généralités sur les algues marines, leurs caractéristiques chimiques et leurs applications**

### **I. Définition**

Les algues sont des organismes aquatiques primitifs qui vivent naturellement dans nos plans d'eau, elles sont capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse (Rivard-Sirois, 2005). Dépourvues de racines, de tiges et de feuilles, mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, sur des rochers humides, ou sur un sol mouillé mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer sur le sol ou sur le tronc des arbres (Michel, 2000).

### **II. Classification**

La classification des algues se fait selon des caractéristiques spécifiques telles que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents (la couleur), le cycle de vie et le type de composés utilisés pour l'entreposage de la nourriture. En effet, les algues sont un groupe d'organismes très diversifiés qui varient en forme et en grosseur : unicellulaire, multicellulaire, coloniale, filamenteuse, amas de protoplastes (Memory, 2006).

La classification des algues repose sur cinq critères

- Trois critères biochimiques qui sont :
  - La nature des pigments photosynthétiques.
  - La nature des polyholosides de réserve.
  - La nature des polyholosides de soutien.
- Deux critères morphocytologiques qui concernent
  - Le type de flagelle.
  - Certains détails de la structure cellulaire.

**Tableau 01:** Caractéristiques importantes des groupes d'algues (Géraldine et Céline, 2009)

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

### III. Les grands groupes des algues marines

#### III.1. Les Chlorophycées

Algues d'un vert franc, à chloroplastes pariétaux porteurs de paranoïdes et élaborant de l'amidon. Membrane cellulosique, souvent avec couche pectiques externe. Le thalle est unicellulaire dans une grande partie des chlorophycées, filamenteux dans les autres, foliacé ou massif dans les plus évoluées. Zoospores typiques piriformes à 2 (parfois 4 ou plus) flagelles apicaux égaux, vacuoles contractiles et tache oculiforme rouges.

Les chlorophycées comportent environ 10000 espèces. La plupart vivent dans les eaux douces, mais les algues 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).

### III.2. Les Phéophycées

Algues de couleur brune ou olivâtre, jamais unicellulaires, à appareil végétatif souvent complexe. Les cellules unicellulaires renferment des plastes pariétaux bruns (*phéoplastes*), le plus souvent nombreux discoïde ou bilobés, plus rarement uniques ou en forme de plaquette irrégulière ou de bandelette ramifiée, pourvus ou non de pyrénoides externes. Outre les chlorophylles a et c, les plastes renferment des quantités notables de pigments caroténoïdes (*fucoxanthine* en particulier).

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*.

Les cellules reproductrices sont généralement flagellées (*zoïdes*) à 2 flagelles inégaux, l'antérieure pourvus de barbules, plus rarement elles sont immobiles (*aplanospores*).

L'étude des Phéophycées est particulièrement intéressante par ce qu'elle montre une variation continue et parallèle dans trois caractères : l'organisation du thalle, le type de fécondation et l'équilibre des phases du cycle (Paul, 2006).

### III.3. Les rhodophycées

L'étude des algues rouges est difficile, au grand nombre de leurs représentant répond la diversité des types d'organisation, des modes de vie et surtout des cycles de reproduction qui sont plus compliqués que dans les autres calasses.

L'originalité physiologiques des rhodophycées consiste dans la présence d'un pigment hétéroprotidique, à noyaux pyrroliques comme la chlorophylle et l'hémoglobine (mais sans métal), la phycoérythrine.

Les algues rouges ne produisent pas d'amidon proprement dit, mais un glucide de plus faible poids moléculaire, analogues au glycogène, appelé (amidon floridéen), qui se colore en brun et non en bleu par l'iode (Paul, 2006).

Beaucoup de rhodophycées vivent en épiphytes sur d'autres algues. Certaines sont liées à une espèce-support déterminée, pénètrent souvent le thalle de l'hôte par des filaments et peuvent être considérées comme hémiparasites. Quelques-unes sont dépourvues de pigment assimilateur et réellement parasite (Paul, 2006).

La reproduction ne fait jamais intervenir d'éléments flagellés. La fécondation est comparable à une oogamie dans laquelle les gamètes mâle (spermatie) sont dépourvus de mobilité et transportés passivement sur une partie réceptrice de l'oogone, le trichogyne. Ce

mécanisme se retrouve chez une partie des ascomycètes supérieurs que l'on a parfois, pour cette raison, interprétés comme dérivant des floridées (Paul, 2006).

### **III.4. Les Cyanobactéries**

Les cyanobactéries ou les algues bleues sont constituées des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Comme les algues rouges, elles possèdent des pigments surnuméraires bleus (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle a. En dépit de leur nom ancien d'algues bleues, elles sont rarement bleues mais plus souvent rouges, vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés. La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse voire gluante en raison des mucilages qu'elles sécrètent (Garon-Lardiere, 2004)

## **IV. Habitat et conditions de vie**

### **IV.1. Habitat des algues**

Selon les groupes et les espèces, les algues sont capables de coloniser presque tous les milieux. Elles se rencontrent des eaux presque pures aux eaux surchargées en minéraux, des eaux thermales aux glaciers, des eaux acides aux eaux alcalines, ainsi que dans le milieu terrestre. En milieu aquatique, elles peuvent être planctoniques (en suspension dans l'eau et incapables de mouvements propres suffisants pour résister à ceux des masses d'eau) ou benthiques (fixées ou en relation étroite avec le fond). Un même groupe d'algues peut être significativement représenté à la fois dans le plancton et le benthos (les algues vertes, les diatomées) ou être très majoritairement planctonique (les haptophytes) ou presque exclusivement benthique (les algues rouges et brunes). Les algues peuvent aussi être aériennes, se développer sur ou dans des végétaux ou des animaux, aquatiques ou terrestres (Brumo, 2016).

Certaines ont des habitats extrêmement spécialisés : la cyanobactérie *Cyanoderma*, n'est connue que sur les poils des bradypes (paresseux à trois doigts), l'algue rouge unicellulaire *Cyanidium caldarium*, présente un optimum de croissance à une température de 57°C et à un pH de l'eau de 2 (eaux thermales acides) (Brumo, 2016).

## **IV.2. Conditions de vie des algues**

### **IV.2.1. La lumière, condition essentielle**

La lumière intervient sur l'algue de diverses façons: par l'intensité lumineuse, par la nature des radiations et par la durée des périodes de luminosité et d'obscurité. La quantité et la qualité de l'algue dépend de la pénétration de la lumière dans les masses d'eau. Elle peut favoriser ou freiner son développement. Les algues détiennent des pigments différents selon les espèces, qui interviennent dans la capture de la lumière. Elles ne font pas toutes le même usage des radiations lumineuses: certaines recherchent beaucoup de lumière et d'autre peu. (Anne, 2002).

### **IV.2.2. Le substrat (ou support)**

Les algues n'ont pas de racines et ne peuvent donc tirer aucune nourriture de leur support. Les éléments nutritifs viennent du milieu qui les baigne. Néanmoins, le substrat ou support joue un rôle par sa nature et ses caractéristiques et déterminera l'espèce qui viendra s'y fixer. Les roches calcaires par exemple, sont envahies par les algues perforantes microscopiques, ce qui leur confère une coloration spécifique. A l'inverse, certaines autres espèces fuiront le substrat calcaire (Anne, 2002).

En outre, le support peut être en eau profonde ou peu profonde comme sur les rochers, les constructions portuaires, les bouées ou les coques de bateaux. Elles peuvent aussi se développer sur un organisme vivant animal ou végétal (Anne, 2002).

### **IV.2.3. Les facteurs hydrodynamiques**

Les vagues, les courants et les marées créent une agitation de l'eau de laquelle dépendent les réactions des algues. Ainsi, chaque espèce supporte différemment ces facteurs hydrodynamiques. Ceux-là agissent donc sur la composition des peuplements d'algues. (Anne, 2002).

### **IV.2.4. La température**

Elle agit sur le système métabolique et reproducteur de l'algue. C'est alors que des variations de température peuvent agir sur la dispersion ou la régression des peuplements. (Anne, 2002).

#### **IV.2.5. La salinité de l'eau**

La salinité agit de deux façons sur l'algue: soit par dissolution du sel dans l'eau, soit par concentration du sel dans l'eau. Ces modifications temporaires ou permanentes peuvent incommoder la vie de l'algue. Les zones à salinité variable limitent l'adaptation des algues. Cette instabilité intervient sur le métabolisme, le perturbe à tel point parfois qu'elle entraîne une élimination des espèces. Seules les algues vertes réussissent à s'adapter (Anne, 2002).

### **V. Caractéristiques des macro-algues**

#### **V.1. Mode de reproduction des algues**

Deux modalités de reproduction existent chez les algues : la reproduction asexuée (ou multiplication végétative) et la reproduction sexuée qui met en jeu l'union ou gamie, d'un gamète male et d'un gamète femelle. Chez certains taxons (cyanobactéries ou algues bleus), le mode asexuée est le seul connu ; chez d'autres, il coexiste avec la reproduction sexuée, notamment chez les characées pour lesquelles ce dernier mode est prépondérant.

##### **V.1.1. Reproduction asexuée**

La reproduction asexuée ou multiplication végétative regroupe tous les phénomènes aboutissant à la production de nouveaux individus sans processus sexué (fusion des gamètes) selon deux types:

Par le biais de divisions:

- Division cellulaire par scission (scissiparité) chez les procaryotes et par mitose chez les eucaryotes. Les cellules filles obtenues sont morphologiquement et cytologiquement identiques à la cellule mère.
- Simple fragmentation du thalle, comparable à un bouturage chez la cyanobactérie (hormogonies).

Par le biais de cellules ou organes spécialisés:

- Les akinètes présents chez certaines cyanobactéries (Nostoc, cylindrospermum) et chez les chlorophycées (Oedogonium, Cladophora)
- Les bulbilles de certaines characées (exemple: Nitellopsis).
- Les spores.

Dans des conditions favorables, ces organes (et cellules) germent pour donner un nouvel individu (Laplace-treiture, 2014).

### **V.1.2. Reproduction sexuée**

Cette modalité de reproduction rencontrée exclusivement chez les eucaryotes permet un brassage chromosomique. Elle est caractérisée par la fusion (ou gamie) de deux cellules spécialisées appelées gamètes (Laplace-treiture, 2014).

On parle de planogamie si les gamètes sont mobiles, d'isogamie si les gamètes sont de structure identique (exemple: *Ulothrix zonata*) ou d'anisogamie dans le cas contraire (exemple: *Ulva*) (Laplace-treiture, 2014).

## **VI. Composition chimique des algues**

La composition biochimique des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance et le stress (Julie, 2010). Les algues se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage de glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes (Julie, 2010).

### **VI.1. Les éléments minéraux**

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux d'où la fraction minérale peut représenter jusqu'à 36% de la masse sèche. Parmi ces éléments présentés dans les algues, nous citons: le potassium, le chlore, le sodium, le calcium, le magnésium, le soufre, le phosphore, l'iode, le fer, le cuivre, le manganèse et de nombreux autres oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, ainsi que bien d'autres oligo-éléments comme le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (Viguerie *et al*, 2002).

### **VI.2. Les lipides**

Les lipides dans les algues peuvent être divisés en: stérols, tri-di ou mono-acylglycérols et phospholipides. La teneur lipidique est très faible de l'ordre de 1 à 5% de la matière sèche. Cependant, du point de vue qualitatif, les lipides algaux présentent une proportion en acides gras essentiels importante dont les algues rouges contiennent des taux élevés d'acides gras polyinsaturés (Darcy-vrillon, 1993).

### **VI.3. Les protéines**

La teneur en protéines des algues marines est variable, certaines espèces d'algues rouges possèdent une fraction protéique (30-40 % de la matière sèche) comparable, du point de vue quantitatif, à celle des légumineuses (Fleurence et Kaas, 1999).

### **VI.4. Les vitamines**

La composition vitaminique des algues est intéressante, malgré de grandes variations saisonnières. L'ensemble des vitamines est bien représenté par les groupes A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C, D et E. L'intérêt principal réside dans la vitamine B<sub>12</sub> dont les teneurs sont assez importantes dans les algues contrairement aux plantes (Watanabe *et al*, 1999).

### **VI.5. Les caroténoïdes**

Toutes les macroalgues contiennent des caroténoïdes qui sont des pigments liposolubles composés d'unités isoprènes. Ceux sont de puissants antioxydants. Ils représentent en moyenne 0,1% du poids sec des algues brunes qui sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine, xanthophylles (violaxanthine) et 8-carotène (Yan *et al*, 1999).

### **VI.6. Les polysaccharides**

Les algues riches en polysaccharides très particuliers les phycocolloïdes (18 à 45% de la masse sèche chez les algues brunes). Les polysaccharides sont présentés par les alginates, les agars, les carraghénanes, les ulvanes et les fucoïdanes, qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et d'autres branches de l'industrie. Ils sont devenus une source importante de composés naturels bioactifs (Cumashi *et al*, 2007; Dos Santos, 2012).

### **VI.7. Les fibres**

Les algues forment une source importante de fibres (de 33 à 61%) qui facilitent le transit intestinal. La fraction de fibres solubles constituée selon l'espèce d'agar-agar, de carraghénane, de xylane, d'alginate, de fucane, de laminarane et d'ulvane, offre un intérêt particulier lié à la nature chimique originale des monomères constitutifs (Lahaye, 1991).



## VII. Les métabolites secondaires des algues

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes. Les métabolites secondaires possédants des activités pharmacologiques et biologiques prometteuses ont été mis en évidence dans plusieurs espèces d'algues; ils constituent environ 35% des substances chimiques nouvellement découvertes durant la période 1977-1987, suivie d'invertébrés marins. Ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Lutge *et al*, 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).

### VII.1. Les composées phénoliques (polyphenols)

La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelés phlorotannins. Les phlorotannins constituent un groupe très hétérogène de molécules (structure et degré de 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 sec (Glombitza et Keusgen, 1995). L'activité antioxydante d'extraits de polyphénols d'algues brunes et rouges a été mise en évidence par des études *in vitro* (Nakamura *et al*, 1996).

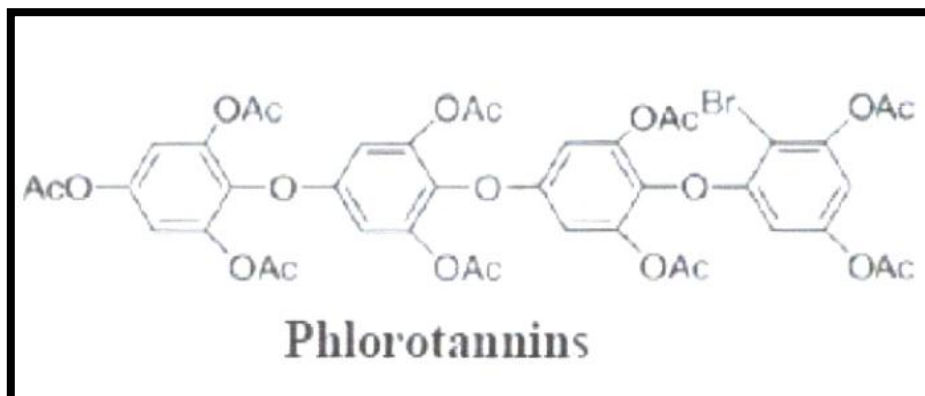
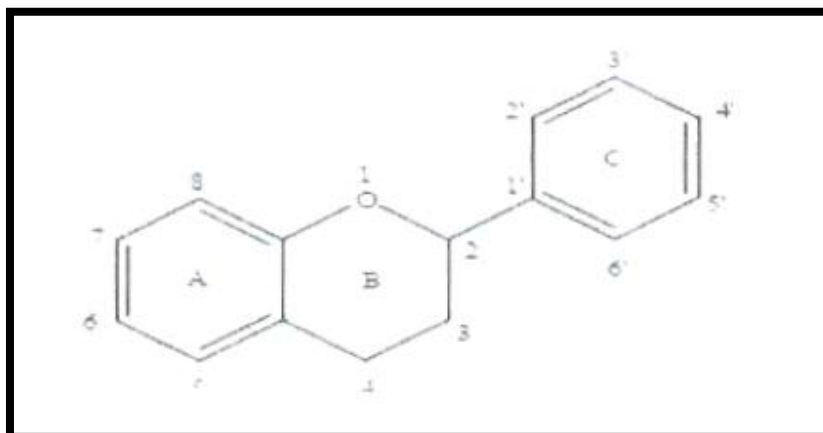


Figure 01 : Structure des phlorotannins (Nakamura *et al.*, 1996)

### VII.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits

et parfois des feuilles. Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: flavones, isoflavandiol, flavanols, flavandiol, aurones, chalcones, anthocyanines (Effendi *et al.*, 2008).

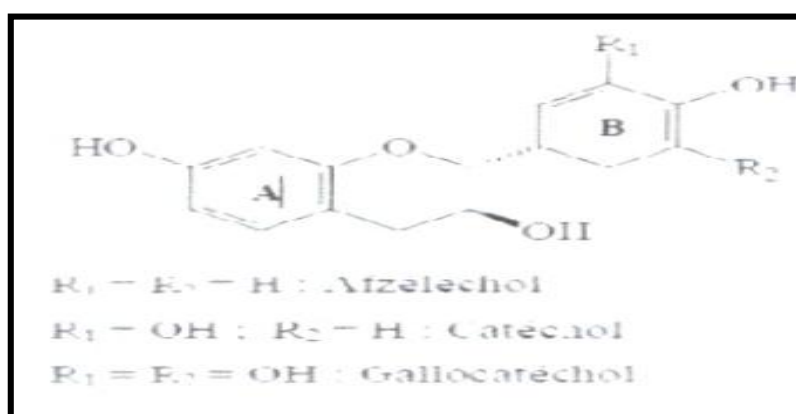


**Figure 02 :** Structure de base des flavonoïdes (Di Carlo *et al.*, 1999)

### VII.3. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et 3000, Dalton (Paris et Hurabielle, 1981).

On distingue habituellement deux groupes de tanins différents par leur structure et leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Bruneton, 1999).



**Figure 03 :** Structure de quelques tanins (Guigniard, 1996)

#### **VII.4. Les isoprénoides (Terpénoides)**

Les terpénoïdes sont constitués d'unités isoprènes (C5). Ils sont classés en plusieurs catégories: monoterpènes (C 10), diterpènes (C20), triterpènes (C30), sesquiterpènes (C 15) et tetraterpènes (C40). Les algues brunes produisent des terpénoïdes et des acétogénines (Harper *et al*, 2001). Les algues rouges sont aussi caractérisées par la production d'un nombre impressionnant de composés halogénés. Les algues vertes, principalement les espèces de Bryopsidales produisent des composés sesquiterpénoïdes et diterpénoïdes (Blunt *et al*, 2011).

#### **VII.5. Les alcaloïdes**

Les composés azotés trouvés dans les algues marines sont relativement rares et peuvent être divisés en trois groupes: phényléthylamine alcaloïdes, indoles et alcaloïdes indoliques halogénés et autres alcaloïdes. Structurellement, les alcaloïdes isolés des algues marines pour la plupart appartiennent à des groupes de la phényléthylamine et de l'indole. Les activités biologiques de ces alcaloïdes n'ont pas été pleinement examinées (Gross *et al*, 2006). Les algues marines contiennent des composés hétérocycliques azotés. Parmi eux, les plus intéressants sont l'acide domoïque et l'acide kainique.

### **VIII. Utilisations des algues**

Il existe plusieurs domaines économiques qui font appel à des algues ou à des phycocolloïdes. Elles présentent actuellement une source nutritionnelle et un produit à valeur montante, surtout en Asie où elles sont utilisées directement comme aliments, ou indirectement surtout par l'industrie de phycocolloïdes (agars et alginates). Elles sont utilisées en agriculture comme engrais et fourrage, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, dans le textile, et dans bien d'autres domaines (Chopin, 1997).

#### **VIII.1. 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*, *Acanthopeltis* et *Pterocladia* sont les principaux producteurs de ces matériaux (Chouikhi,

2013). 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).

### **VIII.2. Fourrages**

Les algues font partie de la liste positive non exhaustive des matières premières pour aliments des animaux. Elles apparaissent sous deux dénominations : farines d'algues marines pour les algues brunes et algues marines pour le lithothamne. Les algues ont été utilisées traditionnellement en alimentation animale pendant des centaines d'années. Leur utilisation actuelle reste cependant marginale du fait de leur coût relativement élevé (Dominique, 2005).

### **VIII.3. Engrais**

L'usage des algues comme engrais remonte au moins au XIXe siècle. Les habitants des côtes ont été les premiers utilisateurs, récupérant les débris laissés par les tempêtes, généralement de grandes algues brunes, et les enfouissant dans la terre. Les algues, avec leur forte teneur en fibres, jouent un rôle de conditionneur du sol et aident à garder l'humidité, alors que les minéraux des algues constituent des engrais et une source d'oligoéléments utiles. (Fao, 2014).

### **VIII.4. Le traitement des eaux usées**

Il existe un usage potentiel des algues marines pour le traitement des eaux usées. Par exemple, certaines algues sont capables d'absorber les ions de métaux lourds tels que le zinc et le cadmium des eaux polluées (Fao, 2014).

### **VIII.5. 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).

### **VIII.6. Les agents antiviraux**

On a signalé que des extraits de plusieurs algues marines avaient une activité antivirale, mais les tests ont été effectués soit *in vitro* (dans des éprouvettes ou des appareils semblables), soit chez des animaux, et on a effectué peu d'études chez l'être humain (Fao, 2014).

## **Partie 02: Activités antioxydantes et antimicrobiennes**

### **I. Activité antioxydante**

#### **I.1. Antioxydants**

Un antioxydant est défini comme une substance ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Cette définition peut être élargie et le terme "antioxydant" englobe ainsi toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques contre les effets délétères potentiels des processus ou réactions qui engendrent une oxydation excessive (Shimizu, 2004).

Les antioxydants arrêtent la réaction, la plupart du temps parce que la structure des antioxydants est relativement stable (Haton, 2005).

On distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule:

#### **➤ Antioxydants endogènes**

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avissar *et al*, 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

### ➤ Antioxydants exogènes

De nombreuses molécules issues de notre alimentation: vitamines, nutriments, composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes, ...etc. sont considérées comme des antioxydants.

#### I.2. Activité antioxydante *in vitro*

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).

Parmi ces techniques, nous citons: la réduction du fer (Oyaizu, 1986), le piégeage du radical 2,2-diphényl- 1 -picrylhydrazyl (DPPH), la quantification de la capacité antioxydante totale (Prieto *et al.*, (1999)., la méthode de décoloration du bêta-carotène (Sun et Ho, 2005).....etc.

## II. Activités biologiques

Les algues d'origine marine occupent une place importante en pharmacologie et en médecine et, de ce fait, font l'objet d'une exploitation industrielle importante. En effet, plusieurs algues marines possèdent des actions vermifuge (*Alsidium helminthocorton*, *Digenea simplex*), hypoglycémiant (*Corallina*, *Cystoseira*, *Pterocladia*, etc...), Hypotensive (*Chondrus*, *Laminaria*, etc...), anticoagulante (*Chondrus*, *Corallina*, *Delessaria*, *Laminaria*, *Pterocladia*, etc...), cardiotonique (*Undria pinnatifida*), anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique et antivirale (*Chondrus*, *Cladophora*, *Ulva*, *Fucus*, *Cystoseira*, *Bifurcaria*).

### II.1. Activité antifongique

#### II.1.1. *Aspergillus sp*

Les champignons du genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729. Ce sont des champignons saprophytes, c'est-à-dire qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition. Ce sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils sont haploïdes. Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui 185 espèces, dont une vingtaine est retrouvée en pathologie humaine (Badillet *et al.*, 1987).

➤ **Pouvoir pathogène**

Les champignons *Aspergillus* peuvent acquérir un pouvoir pathogène pour déterminer des affections (aspergilloses) assez rares mais bien individualisées. C'est notamment le cas lorsqu'elles se développent chez une personne immunodéprimée. L'aspergillose est donc une infection opportuniste.

On connaît comme agents responsables d'aspergillose:

*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus terreus*.

## **II.2. Activité antibactérienne**

### **II.2.1. *Escherichia coli***

*Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif (Patrick *et al*, 1988), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (Steven *et al*, 2004).

Les bactéries appartenant à l'espèce *Escherichia coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

➤ **Pouvoir pathogène**

Ces souches sont responsables de la diarrhée des voyageurs et de syndromes diarrhéiques cholériformes épidémiques dans les pays du tiers-monde. Ce sont des souches capables d'excréter des toxines (toxines LT et bu ST) (Guiraud *et al*, 2004).

Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèces animales des infections spontanées des voies digestives notamment les salmonelles (Federighi, 2005) ou urinaires ou bien encore des méningites néonatales.

D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies (Patrick *et al*, 1988).

### II.2.2. *Bacillus cereus*

Un grand bacille à Gram positif en forme de bâtonnet de 1 µm de large pour 3 à 4 µm de long, sporulé, mobile et de type respiratoire aéro-anaérobie. Le germe *B. cereus*, retrouvé de manière ubiquitaire dans le sol, est fréquemment responsable d'intoxications alimentaires opportunistes.

#### ➤ **Pouvoir pathogène**

L'intoxication alimentaire à *B. cereus* revêt deux formes:

- La forme émétique, accompagnée de nausées et de vomissements (durée d'incubation à 5 heures).
- La forme diarrhéique, accompagnée de douleurs abdominales et d'une diarrhée (durée d'incubation : 6 à 24 heures).

### II.2.3. *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 µm. Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Elles sont immobiles, a sporulés, habituellement sans capsule, coagulasse et catalase positive. De nombreuses souches de *S. aureus* produisent un pigment jaune doré (Patrick *et al*, 1988).

#### ➤ **Pouvoir pathogène**

*Staphylococcus aureus* tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles ou associées à la paroi (hémolysines  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ ) (Guiraud *et al*, 2004). Elle est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Steven *et al*, 2004).

### II.2.4. *Klebsiella sp*

Le genre *Klebsiella* rassemble à des bacilles à Gram négatif, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée, ou en groupés par deux ou groupés en courtes chaînes et présentant les caractères généraux de la famille des Enterobacteriaceae. Ce sont des bactéries immobiles, capsulées (la culture dans des milieux contenant un sucre fermentescible favorise sa formation, au moins 77 antigènes K ont été décrits), non sporulées, aéroanaérobies, ayant un métabolisme respiratoire et fermentatif,



fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, ODC négative, ADH négative, tryptophane désaminase et phénylalanine désaminase négatives.

➤ **Pouvoir pathogène**

*Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* sont des espèces ubiquistes, isolées des eaux de surface, des eaux usées, des effluents industriels, du sol, du bois, de végétaux divers et des aliments. Ces espèces sont également retrouvées dans la flore intestinale des animaux et de l'homme et ils existent à l'état commensal sur la peau et les muqueuses, notamment les muqueuses respiratoires. *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* peuvent produire des fimbriae de type 1 qui semblent impliquées dans l'attachement aux cellules ciliées de l'appareil respiratoire. Elles peuvent également produire des fimbriae de type 3 dont l'importance in vivo est mal connue, mais qui pourraient permettre un attachement sur des surfaces inertes comme du matériel médical.

# *Matériel et Méthodes*

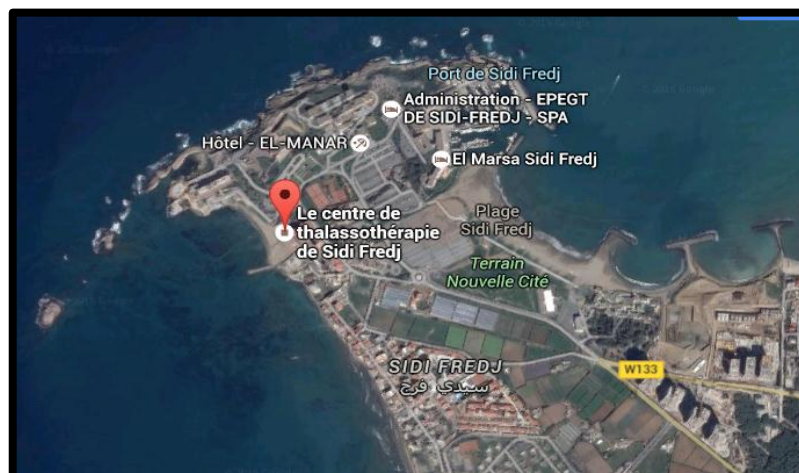
## I. Préparation de l'échantillon

### I.1. Zone d'échantillonnage

L'algue verte *Ulva lactuca* a été collectée durant le mois d'Avril 2016. Une première collecte a été effectuée au niveau de la côte rocheuse de la plage des juifs située sur le littoral de la ville d'Annaba. Une seconde collecte a été réalisée au niveau de la plage située sur le plateau rocheux de la presque île de Sidi Fredj à l'ouest d'Alger.



**Figure 04:** Localisation géographique du site de l'échantillonnage d'*Ulva lactuca* (Annaba) (Google earth, 2016)



**Figure 05 :** Localisation géographique du site de l'échantillonnage d'*Ulva lactuca* (Alger) (Google earth, 2016)

## I.2. Identification de l'algue

L'échantillon d'algue *U. lactuca* a été identifié par Dr. ZITOUNI Hind en collaboration avec Mr. CHIRI Karim, plongeur professionnel et membre du club de plongée sous marine Hippone Sub (Annaba).

**Tableau 02 :** Caractéristiques botaniques et phénotypiques de l'algue marine *Ulva lactuca* (Anonyme)

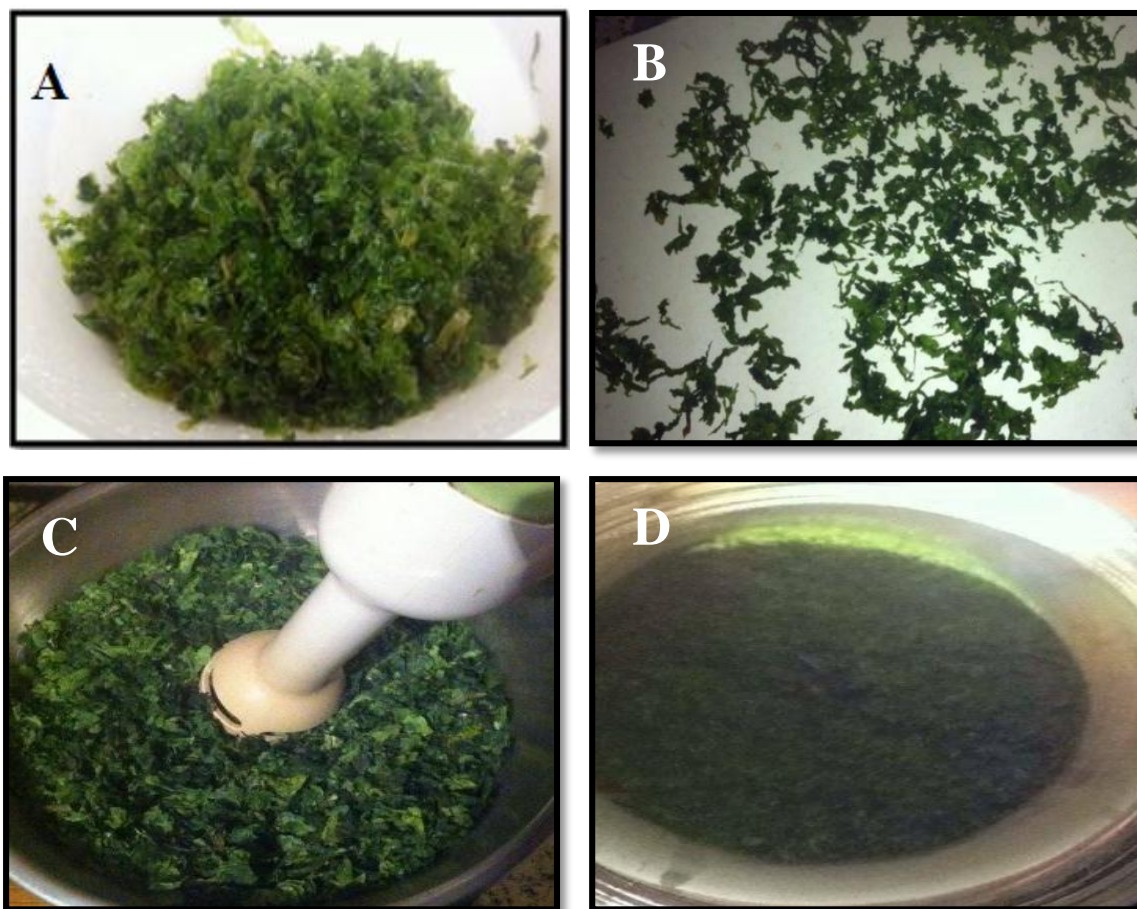
<b>Nom latin</b>	<i>Ulva lactuca</i>
<b>Nom commun</b>	Laitue de mer
<b>Classification</b>	<b>Règne:</b> Plantae <b>Embranchement:</b> Chlorophyta <b>Classe:</b> Ulvophyceae <b>Ordre :</b> Ulvales <b>Famille:</b> Ulvaceae
<b>Description</b>	Elle forme une lame très mince (bicouche cellulaire), orbiculaire et translucide elle ressemble à la laitue.
<b>Ecologie</b>	Pousse généralement au niveau de l'étage supralittoral, mais elle peut se développer jusqu'à 10 mètres de profondeur. Elle peut se fixer sur n'importe quel substrat solide : rocher, digue...
<b>Thalle</b>	Le thalle mesure jusqu'à 10 cm d'envergure, aplati et entier, membraneux et irrégulièrement perforé, il est fixé par un petit crampon discoïde. Une lame bistomatique possède des cellules de 20 à 23 $\mu\text{m}$ de long et 20- 21 $\mu\text{m}$ 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.
<b>Reproduction et cycle de vie</b>	Leur durée de vie est de quelques mois, mais on en trouve toute l'année, le cycle est caractérisé par l'alternance régulière de générations haploïde (gamétophyte) et diploïde (sporophyte), qui sont de même importance et morphologiquement identiques.



**Figure 06:** *Ulva lactuca*

### **I.3. Conservation de l'échantillon**

Les algues sont prélevées à la main et conservées dans des bouteilles en plastique, remplies d'eau de mer. Une fois au laboratoire, un tri est effectué pour éliminer les débris, les petits coquillages et les autres espèces d'algues. Les échantillons sont par la suite rincés à l'eau du robinet puis à l'eau distillée pour éliminer le sable, l'excès de sel et les épiphytes (Figure 07 A). Les échantillons sont alors séchés à l'air libre, à l'abri de la lumière durant 72h (Figure 07 B). Après séchage, les échantillons sont broyés dans un broyeur électrique et conservés à l'abri de l'humidité jusqu'à utilisation (Figure 07 CetD) (El hassouni *et al.*, 2013).



**Figure 07 :** Etapes de préparation de l'échantillon

**A :** Rinçage de l'algue *Ulva lactuca* par l'eau distillée, **B :** Séchage de l'algue à l'air libre et à l'abri de la lumière, **C :** Broyage de l'algue, **D :** L'algue *Ulva lactuca* en poudre.

## II. Etude des métabolites secondaires

### II.1. Préparation de l'extrait brut

L'extrait brut est obtenu en réalisant une macération de 25g de poudre d'algue dans 300 ml d'un mélange de solvants (chloroforme/éthanol) (150/150, v/v). Après 48h, une filtration est réalisée sous vide avec du papier wattman N°1. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à 40 °C pendant 30 minutes sous pression réduite avec un évaporateur rotatif de type BUCHI R-210. L'extrait obtenu est récupéré par le méthanol puis conservé dans des tubes à 4°C à l'obscurité jusqu'à l'utilisation (Moujahid *et al.*, 2004).





**Figure 08** : Evaporateur rotatif de type BUCHI R-210

## II.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

## II.3.Dosage des composés phénoliques

### II.3.1.Dosage des phénols totaux

- **Principe**

Les polyphénols sont déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1965). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

- **Mode opératoire**

Un volume de 200 µl de l'extrait est introduit dans des tubes à essai avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) et 0,8 ml de carbonate de sodium (7.5%). Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-VIS SPECTROPHOTOMETER). Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de matière algale sèche (mg EAG/g MS) (Naghraoui, 2012).

### **II.3.2. Dosage des tanins totaux**

Un volume de 1000 µl de l'extrait est mélangé avec 0,1 g de PVPP puis soumis au vortex pendant 15 min. Par la suite, une centrifugation est réalisée durant 10 min à 3000 Rpm. Le surnageant est récupéré et incubé pendant 20 min à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche algale (mg EAG/g MS) (Makkar *et al.*, 1993; Velioglu *et al.*, 1998).

### **II.3.3. Dosage des flavonoïdes**

Un volume de 1 ml de la solution d'extrait (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2%) préparé dans le méthanol. Le mélange est vigoureusement agité, puis incubé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes de l'extrait est obtenue en se référant à une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme de poids sec de l'algue (mg EQ/g Ps) (Kosalec *et al.*, 2004).

## **III. Evaluation de l'activité antioxydante**

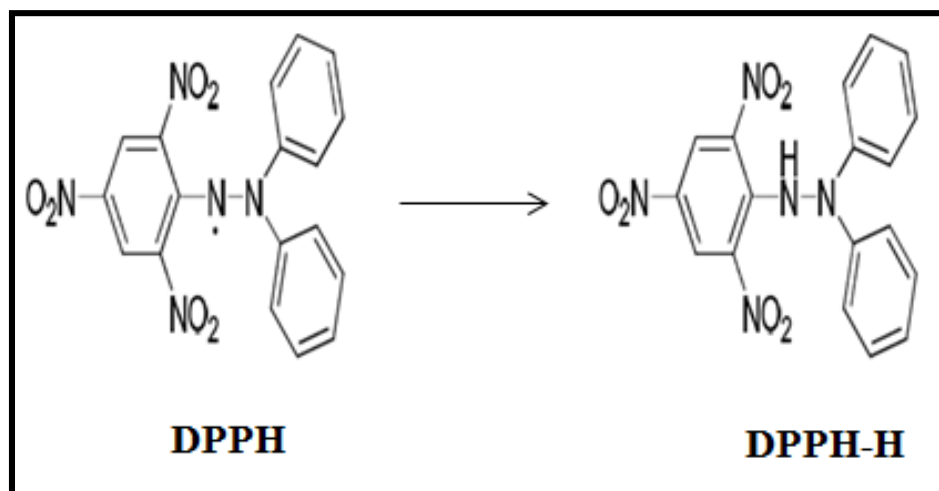
### **III.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)**

- **Principe**

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable qui absorbe entre 512 et 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl-1-picryl hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).



L'absorbance mesurée à 517 nm sert à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Parejo *et al.*, 2002).



**Figure 09:** Forme libre et réduite du DPPH

- **Mode opératoire**

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration. Le contrôle positif est représenté par une solution méthanolique d'un antioxydant standard (Acide ascorbique).

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre le blanc (Naghraoui, 2012).

### Expression des résultats

Le calcul des pourcentages d'inhibition se fait par la formule suivante:

$$I \% = ((Ac - At) / Ac) \times 100$$

Ac : absorbance du contrôle négatif

At: absorbance de l'extrait

### III.2. Capacité antioxydante totale (CAT)

Un volume de 0,3 ml d'extrait est mélangé avec 3 ml de la solution des réactifs (acide sulfurique 0,6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes sont visés et incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm contre le blanc. Le blanc est préparé en mélangeant 3 ml de la solution de réactifs et 0,3 ml de méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme de matière algale sèche (mg EAA/g MS). Les expériences sont répétées trois fois.

### IV. Etude des activités antimicrobiennes

Les souches utilisées dans les tests microbiologiques appartiennent à deux groupes de microorganismes : des champignons et des bactéries. Les souches fongiques sont conservées dans le milieu PDA à 25°C et les souches bactériennes sont conservées dans la gélose nutritive à 4°C.

**Tableau 03:** Champignons utilisés pour les tests antifongiques

Champignons	Provenance
<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i>	Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité microbienne (LaMyBAM), Université de Constantine

**Tableau 04 :** Bactéries utilisées pour les tests antibactériens

Bactéries	Gram	Code	Provenance
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 29322	-Clinique rénale DAKSI de Constantine
<i>Klebsilla sp</i>	Négatif	/	
<i>Bacillus cereus</i>	Positif	/	-CHU de Constantine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923	

## IV.1. Etude de l'activité antifongique

Deux méthodes sont réalisées dans cette étude pour la détermination de l'activité antifongique.

### A. Méthode des disques mycéliens

Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait d'*Ulva lactuca* (50  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) est ajouté à 20 ml du milieu PDA (200g de Pomme de terre, 20g de Dextrose, 20g d'Agar et 1000L d'eau distillée, un  $\text{pH}=7$ ).

Après solidification du milieu, un disque mycélien de 6 mm de diamètre est pris de la culture fongique mère et déposé renversées au centre de la boîte. Une boîte de PDA avec du méthanol et une autre sans extrait ont servi de témoins. Les boîtes sont incubées 7 jours à 25°C (Nil, 2012).

### B. Méthode de diffusion par disques en milieu solide

Des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA sontensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile par une suspension sporale des champignons *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. Dans chaque boîte, 4 disques de 6 mm de diamètre (papier wattman) sont imbibées de sorte que trois d'entre eux reçoivent 50  $\mu\text{l}$  de l'extrait (50  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) alors que le 4<sup>ème</sup> disque 50  $\mu\text{l}$  du méthanol. Une seconde boîte de pétri reçoit uniquement un disque imbibé d'extrait brut et une troisième boîte contenant uniquement les champignons est utilisée comme témoin négatif. L'ensemble est incubé durant 48h à 37°C. L'inhibition de la croissance est traduite par l'apparition de halos clairs au tour des disques et les résultats sont exprimés en mesurant le diamètre de ces zones d'inhibition.

## IV.2. Etude de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait *Ulva lactuca* est utilisée par la méthode de diffusion par disque en milieu solide (Tagg et Given, 1971). Des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller Hinton (MH), sontensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile par une préculture bactérienne de 24 heures. Dans chaque boîte, 4 disques de 6 mm de diamètre sont imbibées de sorte que trois d'entre eux reçoivent 60  $\mu\text{l}$  de l'extrait (50  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) alors que le 4<sup>ème</sup> disque reçoit 60  $\mu\text{l}$  du méthanol. Une seconde boîte de pétri reçoit uniquement un disque imbibé d'extrait brut et une troisième boîte contenant uniquement la bactérie est utilisée comme témoin négatif.

L'ensemble est incubé durant 24h à 37°C. L'inhibition de la croissance est traduite par l'apparition des halos clairs au tour des disques et les résultats sont obtenus en mesurant le diamètre de ces zones d'inhibition.

En parallèle, des boîtes de Pétri sontensemencées avec les quatre souches bactériennes en présence de disques d'antibiotiques: Pénicilline (10mcg), Lincomycine (10mcg), Amoxicilline (10 mcg) et Amikacine (10 mcg).

**Tableau 05** : Liste des antibiotiques testés sur les bactéries

<b>Antibiotique</b>	<b>Code</b>	<b>Charge</b>
<b>Pénicilline</b>	P	10 mcg
<b>Lincomycine</b>	L	10 mcg
<b>Amoxicilline</b>	AX	25 mcg
<b>Amikacine</b>	AK	10 mcg

# *Résultats et Discussion*

## I. Rendement en extrait brut

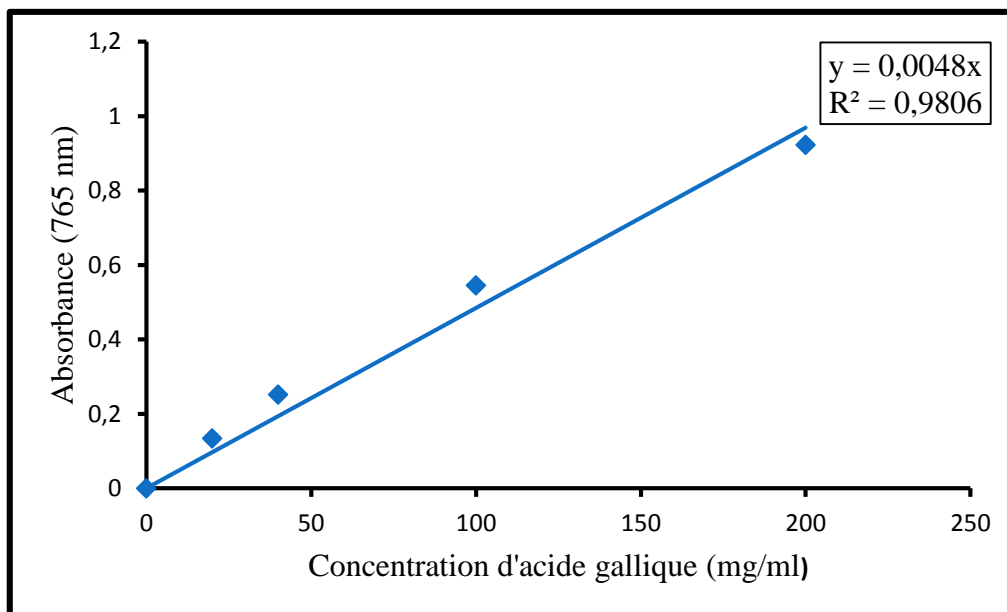
L'extraction des composés secondaires après 48h de macération à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* nous a permis de calculer le rendement de l'extrait qui est exprimé en pourcentage pour 100g d'algue sèche broyée. La moyenne des résultats obtenus après différentes extractions est évaluée à (9,2%). La valeur obtenue est plus élevée que celle de (Aleng *et al.*, 2009) qui rapportent un faible rendement de l'extrait sec de la même espèce, évaluée à 2,8% (extraction par le méthanol) et 0,17 % (extraction par le chloroforme).

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*.

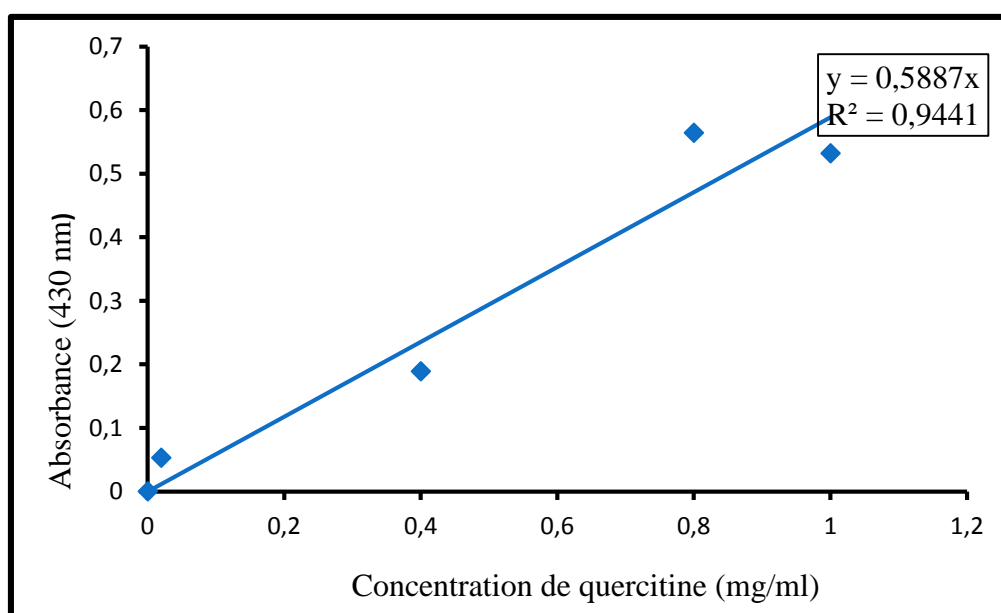
Selon Michel *et al.* (2012), le rendement des extractions par des solvants de polarité croissante dépend de la nature du solvant utilisé et des propriétés chimiques des molécules à extraire. De même, la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion) joue également un rôle important dans la détermination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

## II. Dosage des composés phénoliques

Les résultats obtenus des différents dosages sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (mg EAG) pour les phénols totaux et les tanins totaux et en mg équivalent de quercitine (mg EQ) pour les flavonoïdes par mg d'extrait, en utilisant les équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage (Figures 10 et 11). Les résultats sont illustrés dans le Tableau 06.



**Figure 10:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux



**Figure 11:** Courbe d'étalonnage de quercitine pour le dosage des flavonoïdes

**Tableau 06:** Teneurs en phénols totaux, en tanins totaux et en flavonoïdes de l'extrait brut d'*Ulva lactuca*

	<b>Phénols totaux (mg EAG/mg extrait)</b>	<b>Tanins totaux (mg EAG/mg extrait)</b>	<b>Flavonoïdes (mg EQ/mg extrait)</b>
<b>Extrait brut</b>	50,966 ± 7 ,561	20,274 ± 5,97	0,823 ± 0,064

Les résultats sont exprimés par la valeur de la moyenne ± écart type de trois répétitions

Le dosage des polyphénols a été réalisé en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Malgré la sensibilité et la simplicité de cette méthode qui est largement utilisée, elle n'est pas spécifique des polyphénols. En effet, le réactif peut réagir avec des protéines, des sucres, l'acide ascorbique et des composés soufrés, ce qui peut influencer les résultats obtenus (Singleton et Rossi, 1965). En ce qui concerne notre étude, l'analyse des composés phénoliques montre que l'extrait méthanolique obtenu à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* possède une teneur élevée en phénols totaux de (50,966 ± 7,561 mg EAG/mg extrait). D'après la littérature, les extraits méthanolique sont les plus riches en composés phénoliques, de ce fait le méthanol reste le meilleur solvant pour extraire ces composés, cette affinité est appuyée par plusieurs travaux (Abdille *et al.*, 2005). Cela est du à la capacité du méthanol à inhiber l'action de la polyphénol oxydase qui provoque l'oxydation des polyphénols dans les tissus végétaux (Yao *et al.*, 2004).

La teneur en tanins totaux enregistrée dans cette étude est de (20,274 mg EAG/mg extrait). Ce résultat doit être pris avec modération, en effet, la méthode de dosage utilisée peut influencer le résultat obtenu. Par ailleurs, il est rapporté que chez les algues marines, il existe une catégorie spécifique de polyphénols appelés phlorotanins, ces derniers ont une structure moins complexe que celle des tanins terrestres et sont représentés par des polymères de phloroglucinol (1,3,5-trihydroxybenzene). Ils peuvent constituer jusqu'au 15% du poids sec des algues brunes.

La teneur en flavonoïdes enregistrée dans cette étude est faible (0,823 mg EQ/mg extrait). Ce résultat est en accord avec d'autres travaux. D'après la littérature, 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 rapporté que les algues vertes contiennent des teneurs variant entre (8,43 et 33,39 mg/gMS), les algues brunes des teneurs



variant entre (20,72 et 32,89 mg/g MS) et les algues rouges des teneurs variant entre (6,03 et 20,91 mg/g MS).

Par ailleurs, il est rapporté que les teneurs en flavonoïdes dans les algues marines varient pour plusieurs raisons: l'espèce, la saison et d'autres conditions géographiques (Sarojini *et al.*, 2012).

Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, réduit les possibilités de comparaison entre les études (Trabelsi *et al.*, 2010). Des études récentes ont montré que les teneurs en composés phénoliques, changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce, à cause des facteurs extrinsèques (température, climat...), génétiques (la variété et l'origine d'espèces), physiologiques (le degré de maturation de la plante, les organes utilisés) et de la durée de stockage (Maisuthisakul *et al.*, 2007; Ksouri *et al.*, 2009).

### III. Pouvoir antioxydant

L'activité antioxydante de l'extrait d'*Ulva lactuca* est évaluée par deux tests qui sont la capacité antioxydante totale et le piégeage du radical libre DPPH.

#### III.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait brut méthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* sont illustrés dans le Tableau 07 et la Figure 13. Ces résultats sont comparés aux pourcentages d'inhibition par un puissant antioxydant (acide ascorbique) utilisé dans cette étude comme témoin positif (Tableau 07).

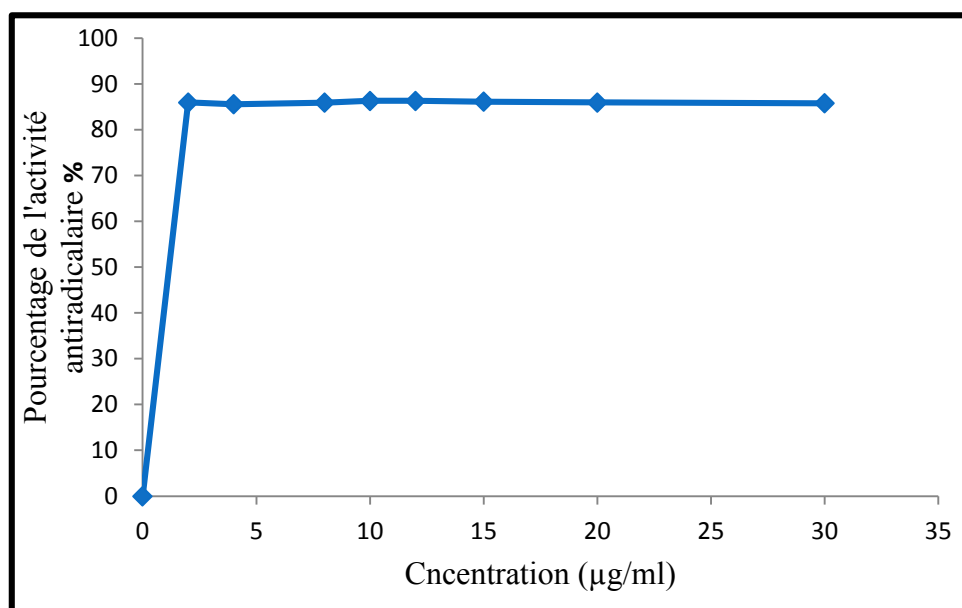
D'après le Tableau 07 et la Figure 13, le pourcentage d'inhibition de l'extrait varie entre 4,19% et 10%. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé (10%) est enregistré avec la concentration de l'extrait méthanolique (15µg/ml). Par ailleurs, il est constaté, une augmentation du pourcentage d'inhibition proportionnellement à la concentration jusqu'à 15%. Au delà de cette concentration une diminution du pourcentage d'inhibition (4,19 %) proportionnellement à l'augmentation de la concentration (2µg/ml) de l'extrait méthanolique est enregistrée.

Comparativement à la littérature, les travaux de (Tefiani, 2015) a obtenu le plus grand pourcentage d'inhibition (7%) avec la concentration (1mg/ml).

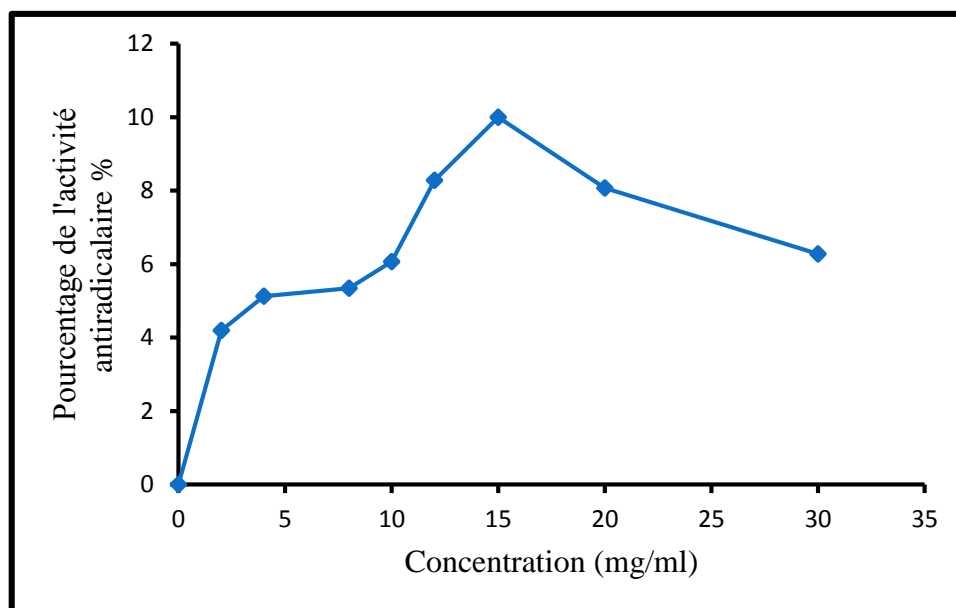
Les valeurs obtenues pour notre espèce ne sont pas en accord avec ces résultats. Ceci est peut être dû à l'effet espèce qui peut influencer l'activité antiradicalaire.

**Tableau 07:** Les pourcentages d'inhibition de l'extrait méthanolique et l'acide ascorbique

Concentrations testées (µg/ml)	30	20	15	12	10	8	4	2
Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique (%)	85,75	85,93	86,10	86,28	86,28	85,90	85,57	85,93
Pourcentage d'inhibition de l'extrait méthanolique (%)	6,28	8,07	10	8,28	6,07	5,34	5,15	4,19



**Figure 12:** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'acide ascorbique



**Figure 13:** Pourcentage d'inhibition de DPPH par l'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca*

#### ➤ Evaluation de l'IC50

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé.

La concentration de l'acide ascorbique qui inhibe 50% du DPPH (IC 50) est évaluée graphiquement à (1 $\mu$ g/ml) (Figure 12). L'acide ascorbique présente donc un faible (IC50), ce qui est en accord avec le pouvoir antiradicalaire élevé obtenu. A la lumière de nos résultats, et d'après le graphique de l'extrait méthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca*, il n'est pas possible de déterminer l'IC50.

### III.2. Capacité antioxydante totale (CAT)

L'évaluation de l'activité antioxydante totale (CAT) indique une valeur pour l'extrait d'*Ulva lactuca* de (10,44µg EAA/gMS). Etant donné l'absence de travaux sur la détermination de l'activité antioxydante totale de l'algue verte *Ulva lactuca*, il n'est pas possible de se référer. D'après les travaux de (Naghraoui, 2012), l'activité antioxydante totale (CAT) de l'algue rouge *Corallina officinalis* est évaluée à (0,6802 mgEAA/g MS).

## IV. Activités antimicrobiennes

L'activité de l'extrait méthanolique (50 µg /µl) d'*Ulva lactuca* a été testée contre des champignons, les deux moisissures (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*) et quatre bactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*) bactéries à Gram négatif et (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*) bactéries à Gram positif.

### IV.1. Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique de l'extrait testé repose sur la mesure de la zone d'inhibition de la croissance mycélienne. Les résultats des essais antifongiques vis-à-vis de l'*Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus* ne révèlent aucune inhibition de la croissance. Aucune zone d'inhibition n'est observée sur les boîtes de pétri avec les deux méthodes et avec les deux extraits (méthanolique et sec). L'analyse de l'aspect macroscopique des colonies, montre que l'extrait de l'algue verte *Ulva lactuca* n'a pas pu inhiber la sporulation des deux champignons testés dans cette étude. On constate qu'à la fois l'extrait méthanolique et sec n'ont cependant aucun effet antifongique contre ces deux moisissures.

Une activité antifongique des algues a été rapportée par Zheng *et al.* (2001). Ces auteurs ont rapporté que l'extrait éthanolique de l'algue *G.amansii* a une très faible activité contre le champignon *Alternaria dianthi*.

Les résultats obtenus s'accordent approximativement avec ceux obtenus par Farid *et al.* (2012) sur les extraits d'*Ulva lactuca* préparés dans le mélange (éthanol/dichlorométhane) récoltée à partir de la côte atlantique marocaine. D'après ces auteurs, les extraits n'ont pas montré d'effet inhibiteur contre *Candida tropicalis* et *Candida neoformens*.

**Tableau 08:** Effet des extraits d'*Ulva lactuca* sur deux espèces de champignons *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*

	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
Effet de l'extrait méthanolique (méthode 1)	-	-
Effet de l'extrait méthanolique (méthode 2)	-	-
Effet de l'extrait sec (méthode 1)	-	-
Effet de l'extrait sec (méthode 2)	-	-

(-) : Absence d'activité

Nos résultats sont en accord avec ceux de Moujahid *et al.* (2004) pour l'espèce *Ulva lactuca* récoltée sur la côte atlantique marocaine vis-à-vis de l'*Aspergillus niger*. Le champignon n'était pas sensible à l'extrait d'algue.

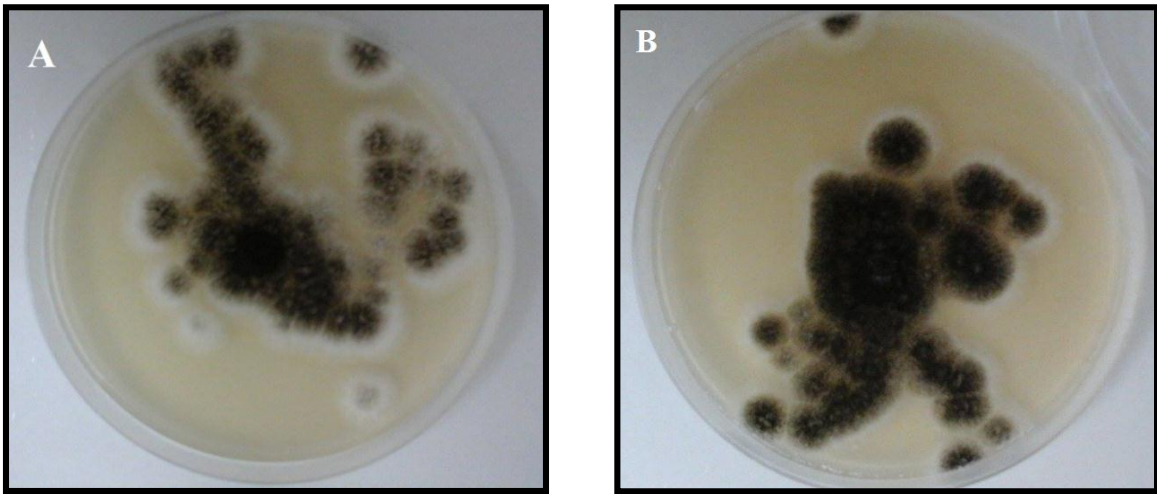
L'absence d'inhibition observée chez *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* peut être due soit à une résistance naturelle de ces espèces à l'extrait de l'algue, soit au choix du solvant. En effet, les méthodes expérimentales et le type de solvant utilisé constituant aussi un facteur très important pour déterminer la bioactivité des algues (Zheng *et al.*, 2001 ; Hellio *et al.*, 2004 ; Manilal *et al.*, 2009).

Younes *et al.* (2009) ont rapporté que l'extrait d'*Ulva lactuca* récolté de la lagune d'Oualidia (Maroc) n'a pas d'activité inhibitrice vis-à-vis du champignon étudié *Candida neoformans*.

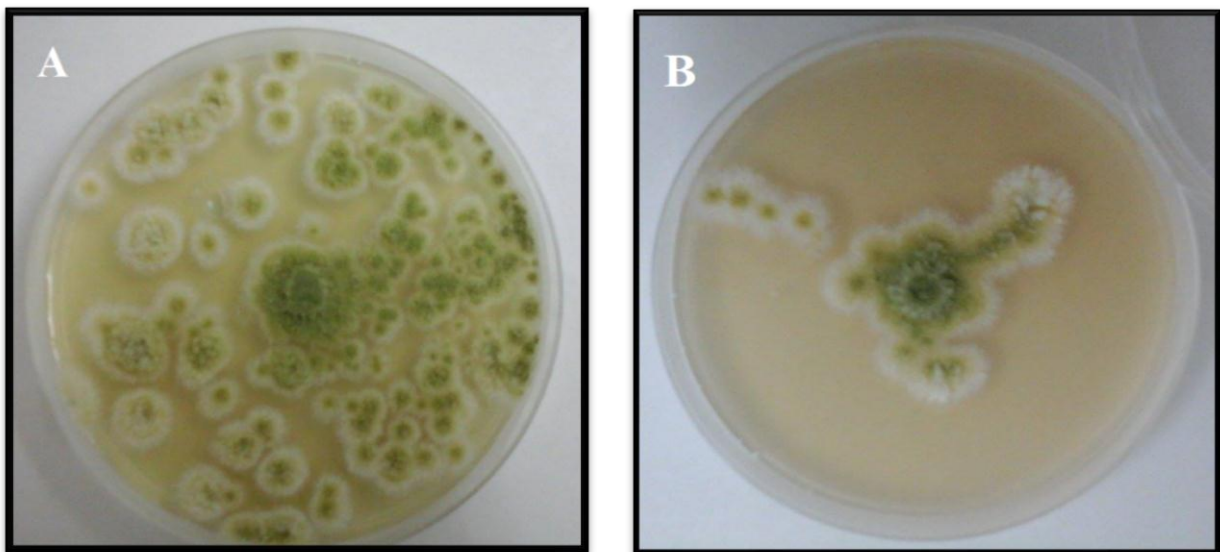
D'autres travaux montrent que les deux classes d'algues Rhodophycées et Phéophycées ont une activité antimicrobienne intéressante alors qu'elle est absente chez les Chlorophycées (Caccamese *et al.*, 1985).

En général, il est rapporté que l'activité antimicrobienne des algues peut être influencée par l'habitat, le stade de croissance et la saison de la collecte des algues (Zheng *et al.*, 2001; Farid *et al.*, 2007).

➤ Résultats méthode 1

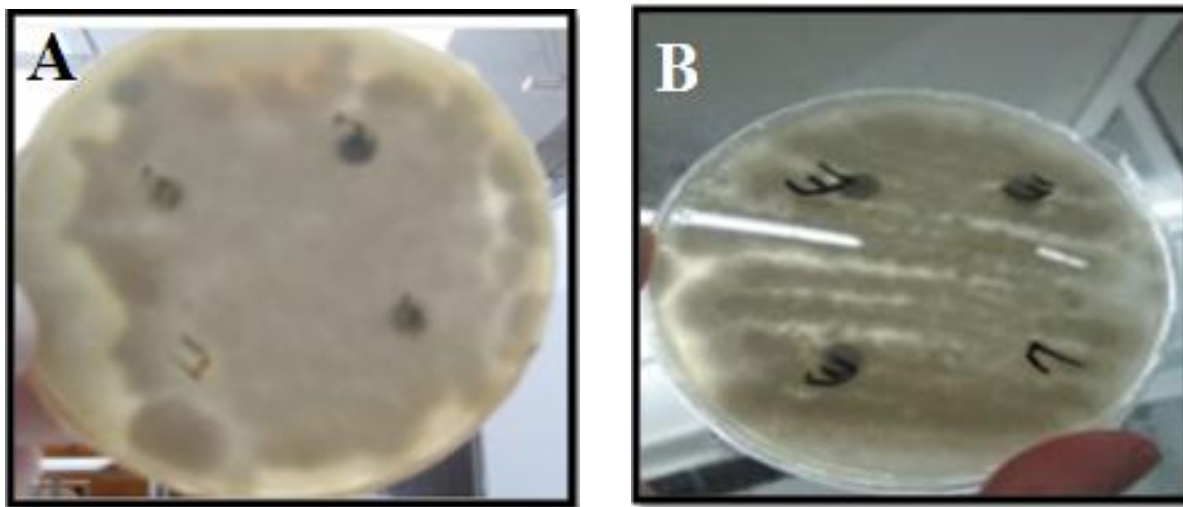


**Figure 14:** **A:** *Aspergillus niger* incubé avec 40  $\mu$ l d'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* (50  $\mu$ g/ $\mu$ l), **B:** *Aspergillus niger* incubé avec 40  $\mu$ l de méthanol (témoin positif)



**Figure 15:** **A:** *Aspergillus flavus* incubé avec 40  $\mu$ l d'extrait d'*Ulva lactuca* (50  $\mu$ g/ $\mu$ l), **B:** *Aspergillus flavus* incubé avec 40  $\mu$ l de méthanol (témoin positif)

## ➤ Résultats méthode 2



**Figure 16:** **A :** Effet de 40  $\mu$ l d'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* sur *Aspergillus niger*, **B :** Effet de 40  $\mu$ l d'extrait méthanolique d'*Ulva lactuca* sur *Aspergillus flavus*.

#### IV.2. Activité antibactérienne

Les résultats des tests antibactériens montrent que l'extrait d'*Ulva lactuca* récoltée durant le mois d'avril 2016 a une activité antibactérienne. Cette activité est révélée contre les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*) et les bactéries à Gram positif (*Bacillus cereus*). En revanche l'activité est absente contre la bactérie à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (Tableau 09).

L'inhibition de l'extrait *Ulva lactuca* reste considérablement plus faible en comparant à celle des antibiotiques commerciaux utilisés comme standards dans cette étude (Pénicilline, Lincomycine, Amoxicilline, Amickacine). Selon l'étendue de la zone d'inhibition sur la boîte de pétri, on peut classer nos quatre souches bactériennes dans l'une des catégories suivantes: Sensible, Intermédiaire, ou Résistante.



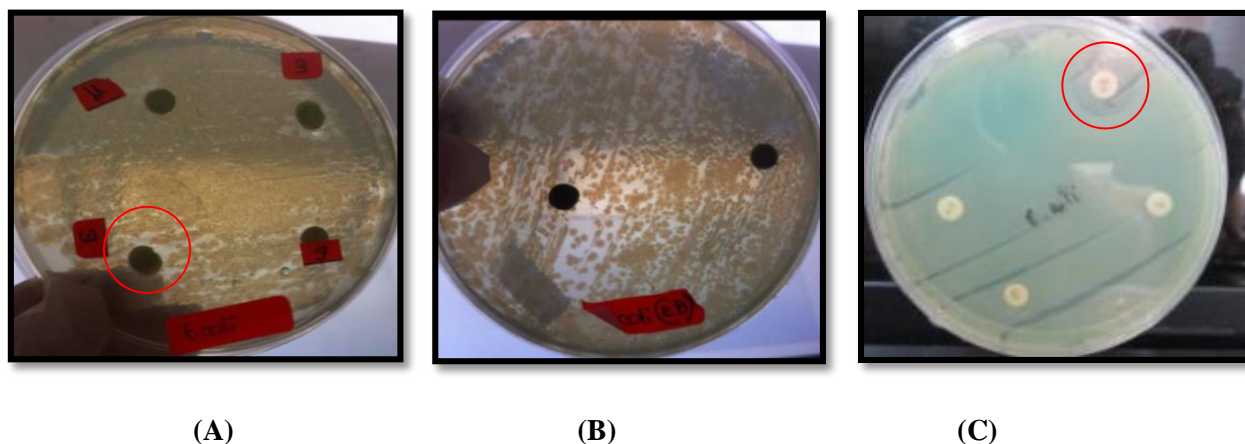
**Tableau 09:** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait d'algue (*Ulva lactuca*)

Espèce	Gram	Résultats	
		Extrait sec	Extrait méthanolique
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	+	+
<i>Klebsiella sp</i>		+	+
<i>Bacillus cereus</i>	Positif	-	+
<i>Staphylococcus aureus</i>		-	-

(-): Absence d'activité

(+): présence d'activité

➤ *Escherichia coli*



**Figure 17:** Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait d'*Ulva lactuca* contre *Escherichia coli* (60µl d'extrait)

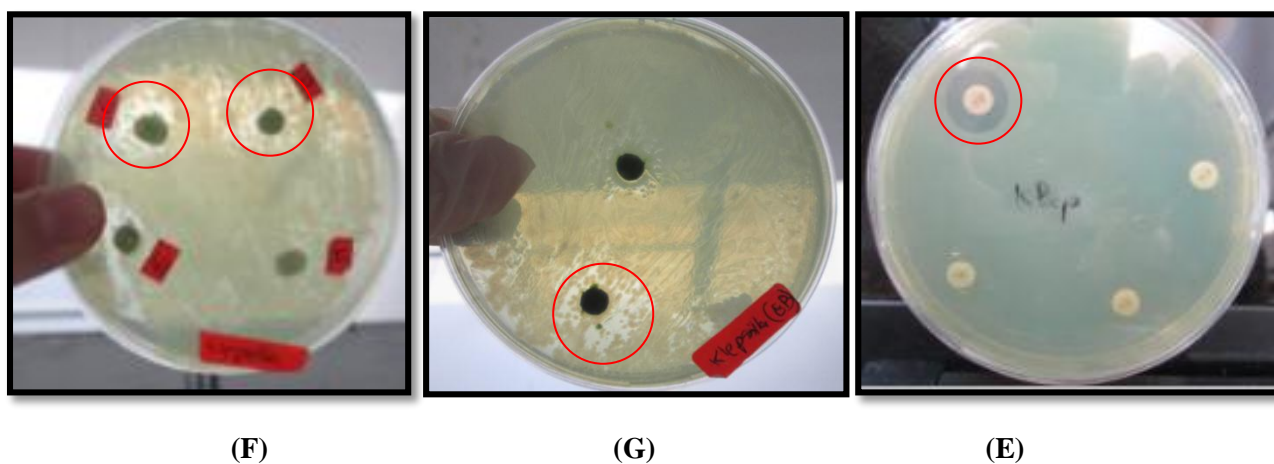
(A): Boiteensemencée par *Escherichia coli* en présence de l'extrait méthanolique, (B): Boiteensemencée par *Escherichia coli* en présence de l'extrait sec, (C): Boiteensemencée par *Escherichia coli* en présence des disques d'antibiotiques commerciaux.

Selon les résultats présentés dans la Figure 17 l'extrait de l'algue *Ulva lactuca* présente une faible zone d'inhibition contre *Escherichia coli* en présence de l'extrait sec et méthanolique. Ce résultat indique une sensibilité modérée de cette bactérie à l'extrait.



Par ailleurs, on remarque une sensibilité de *Escherichia coli* en vers l'antibiotique Amikacine, tandis que les autres antibiotiques n'ont aucun effet inhibiteur sur la souche testée.

➤ *Klebsiella sp*

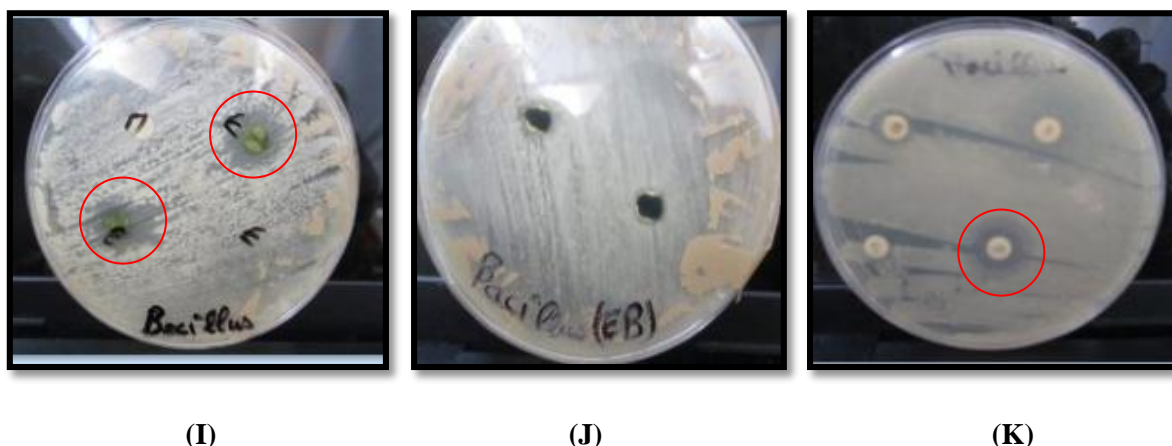


**Figure 18:** Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait *Ulva lactuca* contre *klebsiella.sp* (60µl d'extrait)

(E): Boiteensemencée par *klebsiella.sp* en présence de l'extrait méthanolique, (F): Boiteensemencée par *klebsiella.sp* en présence de l'extrait sec, (G): Boiteensemencée par *klebsiella.sp* en présence des disques d'antibiotiques commerciaux.

Selon les résultats présentés dans la Figure 18 nous remarquons une zone d'inhibition tout autour des disques imbibés d'extrait sec et d'extrait méthanolique. Par ailleurs, les résultats obtenus au test antibiogramme montrent une résistance remarquable de la souche testée *klebsiella.sp* vis-à-vis de la Pénicilline, Lincomycine et Amoxicilline et une sensibilité pour l'Amikacine.

➤ *Bacillus cereus*



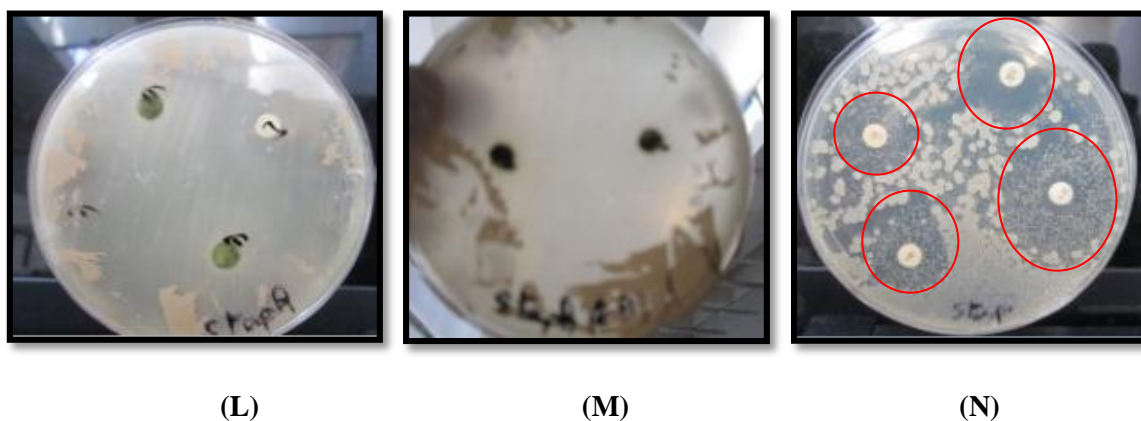
**Figure 19:** Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait *Ulva lactuca* contre *Bacillus cereus* (60µl d'extrait)

(I): Boite ensemencée par *Bacillus cereus* en présence de l'extrait méthanolique, (J) : Boite ensemencée par *Bacillus cereus* en présence de l'extrait sec, (K) : Boite ensemencée par *Bacillus cereus* en présence des disques d'antibiotiques commerciaux.

Selon les résultats présentés dans la Figure 19 on remarque que l'extrait sec d'*Ulva lactuca* présente une absence de zone d'inhibition contre la souche *Bacillus cereus*, par contre on constate que l'extrait méthanolique a un effet antibactérien assez considérable contre la souche testée.

Les trois antibiotiques: Amoxicilline, Amikacine et Lincomycine exercent un effet inhibiteur sur *Bacillus cereus* contrairement à l'antibiotique restant avec lequel la souche est résistante.

➤ *Staphylococcus aureus*



**Figure 20:** Mise en évidence de l'effet antibactérien de l'extrait *Ulva lactuca* contre *Staphylococcus aureus* (60µl d'extrait)

(L): Boiteensemencée par *Staphylococcus aureus* en présence de l'extrait méthanolique, (M): Boiteensemencée par *Staphylococcus aureus* en présence de l'extrait brut, (N): Boiteensemencée par *Staphylococcus aureus* en présence des disques d'antibiotiques commerciaux.

Selon les résultats illustrés dans la Figure 20, on constate que l'extrait méthanolique et l'extrait brut n'ont aucun effet inhibiteur sur la souche testée *Staphylococcus aureus*, aucune zone d'inhibition n'a été observée. Les quatre antibiotiques ont un effet inhibiteur considérable contre *Staphylococcus aureus*, cette bactérie est potentiellement sensible.

Les algues vertes font l'objet de nombreuses études à travers le monde néanmoins, les données présentées dans cette modeste étude constituent les premiers résultats de l'algue verte *Ulva lactuca* de la côte Algérienne.

Les extraits des algues vertes, *E. linza*, *E. intestinalis* et *U. lactuca*, ont présenté une zone d'inhibition contre *Staphylococcus aureus*. Reichelt et Borowitzka (1983) ont montré que les ulves ont des effets antimicrobiens sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, par contre Kumar et Rengasamy (2000), Caccamese et Azzolina (1979) ainsi que Ktari (2000), ont montré que l'activité antimicrobienne est absente dans les extraits d'algues des ulves.

Kumar et Rengasany (2000), Elkouri *et al.* (2004), ont rapporté que les extraits d'Entéromorphes ont une activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries étudiées sauf pour la souche *Escherichia coli*. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par Jing-wen et Wei-ci (1984) qui ont rapporté que les extraits d'algues, récoltées sur la côte Qingdao de Chine, préparés dans le mélange (toluène/méthanol) d'*E. intestinalis* et *E. linza* ne présentent aucune activité antibactérienne.

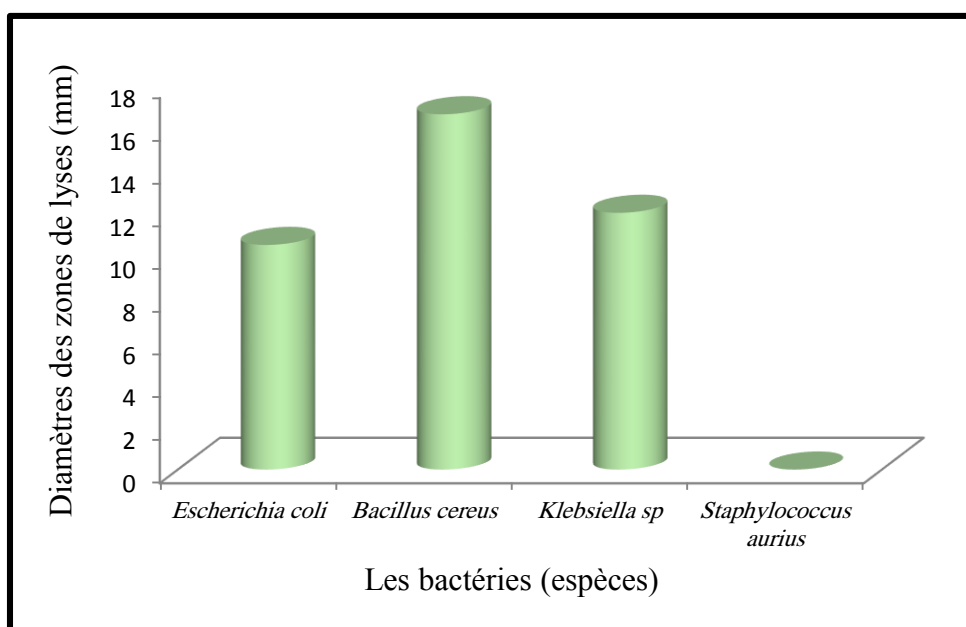
Les extraits méthanoliques de l'algue *Ulva lactuca* présentent une forte activité vis-à-vis des souches bactériennes *klebsiella sp* et *Bacillus cereus*, par rapport à la souche *Escherichia coli* (Younes *et al.*, 2009; Farid *et al.*, 2012).

L'activité antimicrobienne induite par les deux extraits, sec et méthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* indique que le procédé d'extraction réalisé nous a permis d'avoir des

substances naturelles ayant un effet inhibiteur sur la croissance d'*Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et de *klebsiella sp.*

Ce résultat est en accord avec celui obtenu par d'autres chercheurs (Reichelt J, Borowitzka M.A., 1984) et (Moujahid *et al.*, 2004) mettant en évidence l'effet antimicrobien des Ulves sur des souches bactériennes à Gram positif (*Streptococcus pyodenes*, *Streptococcus pneumoniae*) et à Gram négatif (*Escherichia coli*).

➤ **Comparaison des diamètres des zones d'inhibition des quatre souches bactériennes testées**



**Figure 21:** Distribution des diamètres des zones d'inhibition en fonction de l'extrait d'*Ulva lactuca* testé sur quatre bactéries

L'extrait de l'algue a montré une activité antibactérienne significative par inhibition de la plupart des microorganismes testés. D'après la Figure 21, on remarque que la zone d'inhibition la plus marquée est obtenue avec la bactérie *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition variant entre (15 et 18 mm). Ce diamètre est suivi de celui de *Klebsiella sp* (9 et 15 mm) et *Escherichia coli* (10 et 11mm). En revanche, l'extrait n'a aucun effet inhibiteur sur la bactérie *Staphylococcus aureus*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Moujahid *et al.* (2004) et Bachir raho *et al.* (2016).

➤ **Effet des antibiotiques sur les quatre bactéries étudiées**

**Tableau 10:** Diamètres des zones d'inhibition en fonction des antibiotiques sur les bactéries testées

	<b>P</b>	<b>L</b>	<b>AX</b>	<b>AK</b>
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	15 mm
<i>Bacillus cereus</i>	-	29 mm	12 mm	18 mm
<i>Klebsiella sp</i>	-	-	-	14 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	9 mm	2 mm	16 mm	2 mm

D'après le Tableau 10, le diamètre de la zone d'inhibition le plus marqué (29 mm) est celui de la bactérie *Bacillus cereus* obtenu avec l'antibiotique Lincomycine. Le plus faible diamètre (2 mm) est enregistré avec la bactérie *Staphylococcus aureus* avec l'antibiotique Amikacine.

Il est également constaté que les deux bactéries *Escherichia coli* et *Klebsiella sp* sont résistantes aux trois antibiotiques: Pénicilline, Lincomycine, Amoxicilline. Concernant la bactérie *Escherichia coli*, nos résultats sont en accord avec ceux de (Naghraoui, 2012), révélée sensible aux deux antibiotiques: Pénicilline, Lincomycine. La même résistance est rapportée pour *Klebsiella pneumoniae* selon ce même auteur.

L'extrait brut d'*Ulva lactuca* indique des zones d'inhibition très proches de celles de l'antibiotique Amikacine contre *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella sp*. On peut donc dire que l'extrait de l'algue étudié a le même effet bactéricide que cet antibiotique vis-à-vis de ces trois bactéries.

*Conclusion générale et  
perspectives*

Le présent travail s'oriente vers une voie de valorisation très peu exploitée en Algérie. Il vise à étudier les potentialités naturelles des algues vertes marines qui forment une source intéressante et très prometteuse de substances biologiquement actives.

La recherche entreprise englobe une étude phytochimique et une évaluation des activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut de l'algue verte *Ulva lactuca* collectée au niveau de deux sites différents, plage des juifs de la wilaya d'Annaba et plage de Sidi Fredj à l'ouest d'Alger.

Les résultats obtenus après différentes extractions nous ont permis de calculer le rendement en extrait brut évalué à (9,2%). Le dosage quantitatif des principales classes de métabolites secondaires a permis d'enregistrer une teneur élevée en phénols totaux de (50,966 ±7,561 mg EAG/mg extrait), une teneur moyenne en tanins totaux de (20,274 mg EAG/mg extrait) et une teneur faible en flavonoïdes de (0,823 mg EQ/mg extrait).

Concernant l'activité antioxydante, nous soulignons la capacité de l'extrait de l'algue étudiée à réduire le DDPH. Le pourcentage d'inhibition le plus marquant (10%) est enregistré avec la concentration de l'extrait (15µg/ml) et l'activité antioxydante totale est évaluée à (10,44 µg EAA/gMS). Ces résultats sont intéressants et font de l'algue étudiée une source naturelle en antioxydants très prometteuse.

D'après l'étude des activités antimicrobiennes de l'extrait brut de l'algue verte *Ulva lactuca*, aucune activité antifongique de notre extrait n'est constaté contre les deux champignons testés: *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. Ce résultat doit être pris avec modération et des tests supplémentaires doivent être envisagés. Par ailleurs, l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait indique un effet bactéricide contre les trois bactéries tests de cette étude: *Bacillus cereus*, *klebsiella sp* et *Escherichia coli*. Cet effet antimicrobien évalué par une zone d'inhibition est révélé approximativement semblable à l'antibiotique commercial Amikacine. L'algue verte *Ulva lactuca* peut donc être exploitée dans le domaine pharmaceutique comme un antibiotique naturel. Cependant, aucun effet bactéricide n'est remarqué contre la bactérie *Staphylococcus aureus*.

Ces différents tests d'activités réalisés montrent que l'extrait étudié renferme probablement un mélange de substances ayant un large spectre d'activités. De ce fait, une





Purification ainsi que l'identification des substances contenues dans notre extrait d'algue s'avère nécessaire.

Ces premiers résultats sont encourageants et font de l'algue verte locale étudiée une source naturelle très intéressante qui peut être utilisée à des fins thérapeutiques et dans le but de renforcer l'antibiothérapie.

Afin d'approfondir ce travail de recherche nous proposons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de travailler sur d'autres sites avec un nombre plus élevé d'espèces.
- De tester plusieurs solvants d'extraction et d'élargir le spectre des microorganismes.
- De purifier et d'identifier les molécules responsables de l'activité antimicrobienne des algues marines.

# *Références Bibliographiques*

- **Abderrazak M., Joël R., (2007).** La botanique de A à Z. Ed. Dunod Pans. 177.
- **Abdille M.H., Singh R.P., Jayaprakasha G.K., Jena B.S., (2005).** Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits, *Food Chemistry*, **90**(4). 891-896.
- **Afnor. (1986).** Recueil des Normes Françaises huiles essentielles. AFNOR. Paris. 57.
- **Alang G., Kaur R., Singh A., Budlakoti P., Singh A., Singla P., (2009).** Antimicrobial activity of *ulva lactuca* extracts and its fractions, *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
- **Anonyme :** [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).
- **Avissar N., Whitin J.C., Allen P.Z., (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *Journal. Biologie. Chem*, **(2)**. 15850-15855.
- **Bachir raho G., Sahnouni F., Benattouche D., Bouhadi D., (2016).** Évaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue marine verte *Ulva rigida* récolté sur les cotes algériennes. Atelier d'inhibition à la phytothérapie, jardin d'essai de Hamma, Alger. 25- 26.
- **Badillet G., de Briève C., Guého E., (1987).** Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique, vol II, Ed VARIA, Paris.
- **Blunt J.W., Copp B.R., Munro Murray H.G., Northcotec P.T., Prinsep M.R., (2011).** *Marine natural products*.28.
- **Boizot N., Charpentier J.P., (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. INR. 79-82.
- **Bruneton J., (1999).** Pharmiognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier. 1120.
- **Bruno De reviers., (2016).** Algues, *Encyclopoedia Universalis*. En ligne : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/algues>.
- **Cacamesse S., Azzolina R., Rurnari G., Gormaci M., Grasso S., (1980).** Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae, *Bot. Mar*, **(23)**. 285-288.
- **Caccamese S, Toscano RM, Furnari., Cormaci M., (1985).** Antimicrobial activities of red and brown algae from Southern Italy coast. *Bot. Mar*, **(28)**. 505 - 507.
- **Caccamese S., et Azzolina R., (1979).** Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern Sicily. *Planta. Med*, **(37)**. 333-339.
- **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.

- **Cumashi A.I., Ushakova N.A., Preobrazhenskaya M.E., D'Incecco A., Piccoli A., Totani L., Tinari N., Morozevich G.E., Berman A.E., Bilan M.I., Usov A.I., Ustyuzhanina N.E., Grachev A.A., Sanderson C.J., Kelly M., Rabinovich G.A., Iacobelli S., Nifantiev N.E.,(2007).** A comparative study of the antiinflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, **7**, 541-542.
- **Darcy-Vritlon B., (1993).** Nutritional aspects of the developing USC of marine macroalgae for the human food industry. In! *Journal Food Sciences Nutrition*, **44** (1 p. 1/4). S23 S35.
- **Deslandes E., Pondaven E., Auperin T., Roussakis C., Guézennec J., Stiger V., Payri C., (2000).** Preliminary study of the in vitro anti-proliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turner J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6) : *Journal of Applied Phycol.* 257–262.
- **Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., (1999).** Flavonoids: old and new aspects of class of natural therapeutic drugs. *L'è. Sciences*, **65** (4). 337-53.
- **Dominique B., Dominique D., Patrick D., Marie-Christine., (2005).** Algues et alimentation animale, *Algo rythme*. 3.
- **Dos Santos Amorim R., (2012).** Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red Seaweed *Gracilaria ornata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **55**(2).171-181.
- **Effendi L., Vajun Y., (2008).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated flavonols in *Escherichia coli*. *Metab. Eng.* 8, 172-181.
- **El hassouni H., Driss A., Gnaouat H., Dahmani F., Bengueddour R., (2013).** Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de deux algues rouges, *Osmundea pinnatifida* et *Gigartina acicularis*. *ScienceLib Editions Mersenne*, (5). 2111-4706.
- **El Kouri A, Bultel-Ponce V, Assobhei O., Etahiri S., (2004).** Etude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire chez quelques espèces d'algues marines de la côte Atlantique Marocaine. *Review of Biol. and Biotechnol*, **3** (1). 29-36.
- **Etahiri S., Bultel-Ponce V., Assobhei O., (2004).** Une nouvelle molécule à activité antibiotique à partir de l'algue rouge *Pterosiphonia complanata*, Brevet Marocain N° 27732.
- **Etahiri S., Bultel-Poncé V., Caux C, Guyot M., (2001).** New bromoditerpenes from the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*, *Journal of Natural Products*, **64**(1-2). 1024-1027.

- **Etahiri S., El kouri A., Bultel-Ponce V., Guyot M., Assobhei O., (2007).** Antibacterial bromophenol from the marine red alga *Pterosiphonia complanata*, Natural Product communication, (2).749-752.
- **FAO., (2004).** La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture, SOFIA: 114-115-116.
- **Farid Y., Chennaoui M., Assobhei O., Etahiri S., (2012).** Screening des algues marines d'oualidia à la recherche d'activités antimicrobienne et anti-inflammatoire. Microbiol. md. San et Environn, 6 (2). 192-209.
- **Fleurence F., Kaas R., (1999).** Les algues marines : une source méconnue de protéines végétales. Equinoxe.56, 12-7.
- **Fleury B.G., Kelecom A., Periera R.C., Teixeira V.L., (1994).** Polyphenol, terpene and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Pheophyta), Bot Mar. 457- 462.
- **Garon-Lardiere S., (2004).** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge
- **Géraldine., Céline L., (2009).** Les algues le trésor de la mer. Heds, Haute école de santé Genève, 1-6.
- **Glombitza K.W., Keusgen M., (1995).** Fuhalols and deshydroxyfuhalols from the brown alga *Sargassum spi nuligerum*. Phyiochemistry. 38, 987-95.
- **Glombitza K.W., Stoffelen H., Murawiski U., Bielaczek J., Egge H., (1974).** Antibiotics from algae Bromophenols from *Rhodomelaecea* : Planta Medica. 105-114
- **Gross H., Goeger D.E., Hils P., Mooberry S.L., Ballantine D., Murray T.F., Valeriote FA., Gerwick W.H., (2006).** Lophocladines, bioactive alkaloids from the red alga *Lophocladia* sp. Journal of Natural Products, 69 (4). 640-644.
- **Guingard J. (1996).** Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris. 175-192.
- **Harper M.K., Bugni T.S., Copp B.R., James R.D., Lindsay B.S., Richardson A.D., Schnabel P.C., Tasdemir D., Van Wagoner R.M., Verbitski S.M., Ireland C.M., (2001).** Introduction to the chemical ecology of marine natural products. In James B. McClintock, Bill J. Baker, Marine Chemical Ecology. CRC Marine Science. 624.
- **Haton C., (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France. 43.
- **Hellio C., Marechal J.P., Véron B., Clare A.S., Le Gal Y., (2004).** Seasonal Variation of Antifouling Activities of Marine Algae from the Brittany Coast (France), Marine Biotechnology, (6).67-82.
- **Hornsey I. S., Hide D., (1985).** The production of antimicrobial compound by British marine algae IV. Variation of antimicrobial activity with algal generation. British. Phycol. J, (20). 21-25.

- **Jing-Wen M., Wei-Ci T., (1984).** Screening for antimicrobial activities in marine algae from the Qingdao Coast, China, *Hydrobiolo.* 116/117et517-520.
- **Julie P., Danielle L., Daniel M., (2010).** Algues, filières du futur Livre Turquoise. Adebioihech. 163.
- **Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., Vladimir-Knez E., (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm,* (54). 65-72.
- **Ktari L., Guyot M., (1999).** A cytotoxic oxysterol from the marine algae *Padina pavonica*, *Journal of Applied Phycology,* (11).511-513.
- **Ktari L., (2000).** Recherche de composés actifs dans les algues marines: propriétés pharmacologique, stimulation du cycle biologique de l'algue et de la biosynthèse d'un métabolite. Thèse. Univ. Paris (VI).140.
- **Kumar A.K., Rengasamy R., (2000).** Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. *Bot. Mar,* (43). 409 - 415.
- **Lahaye M., (1991).** Marine algac as source of fibers: determination of soluble and insoluble dietary fibre content in some sea-vegetables. *Journal Sciences Food Agricol.* 54 et 587-94.
- **Laplace-Treyture C., Pelter M.C., Lambert E., Roudriguez S., Vergon J.P., Chauvin C., (2014).** Guide pratique de détermination générique des algues macroscopiques d'eau douce et de quelques organismes hétérotrophes. Ministère de l'environnement.13-14.
- **Lutge U., Kluge M., Bauer G., (2002).** Botanique 3 Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris.211.
- **Maataoui B.S., Hmeyene A., Hilali S., (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*), *Lebanese Science Journal,* (1). 3-8.
- **Makkar H.P.S., Bluemmel M., Borowy N.K., Becker K., (1993).** Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods, *J. Sci. Food Agric,*(61). 161–165.
- **Manilal A., Sujith S., Seghal Kiran G., Selvin J., Shakir C., Gandhimathi R., Lipton A.P., (2009).** Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of microbiology,* 59 (2). 207-219.
- **Marfaing H., (2004).** Les algues dans notre alimentation : Intérêt nutritionnel et utilisations. *Revue de nutrition pratique. Dietecom Bretagne. CEVA.* 1-9.

- **Marfak A., (2003).** Radiolyse Gamma des flavonoïdes ; Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France. 6-7-10.
- **Meenakshi S., Gnanambigai D.M., (2009).** Global Journal of Pharmacology. 3, 59-63.
- **Memory H. (2006).** Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes: 45.
- **Michel C., (2000).** Algues-operon. Biologie Module 1, Diversité des algues et des Plantes. 20.
- **Michel T., Destandau E., Le Floch G., Lucchesi M.E., Elfakira C., (2012).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed, Food Chemistry, **131**(3). 754-760.
- **Moreau A., (2002).** Documentaliste scientifique et technique -Centre de ressources documentaires Estran cite de la mer dieppe 26/09/02. 5.
- **Moujahid A., Bencharki B.L., Hilali A., Bagr L., Najim L., (2004).** Activités antibactérienne et antifongique des extraits d'algues marines d'origine marocaine, biologie et santé, **4**(2). 299.
- **Naghraoui M., (2012).** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid), Mémoire de fin d'études. 30.
- **Nakamura T., Nagayama K., Uchida K., Tanaka R., (1996).** Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. Fish Sciences, **62**(6). 923-6.
- **Nil S., (2012).** Variation saisonnières du rendement es des propriétés physicochimiques de l'agar de la rhodophycée *Gelidium sesquipedale* de la cote de Mostaganem activité antibactérienne et antifongique de l'extrait algal. 37-38.
- **Oyaizu M., (1986).** Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition, (**44**). 307-3 15.
- **Parejo I., Viladomat T.F., Bastida J., Rosas-Romero A., Flerlage N., Burillo J., Codina C., (2002).** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and non-distilled Mediterranean herbs and aromatic plants, J Agric. Food .Chem, (**5**). 6882-6884.
- **Paris M., Hurabielle., (1981).** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome1. Ed Masson. Paris. 102-103-104-107.
- **PAUL O., (2006).**
- **Paul V.J., Fenical W., (1987).** Natural products chemistry and chemical defence in tropical marine algae of the phylum chlorophyta : Bioorganism Marina Chemistry. 1-29.

- **Person J., Lando D., Mathiu D., (2010).** Algues, filières du futur : Livre Turquoise. Adebiohech. 6.
- **Praud A., (1994).** Isolement, caractérisation structurale et analyse de nouveaux métabolites d'algues méditerranéennes appartenant aux genres *Cystoseira* et *Lyngbiya*. Thèse. Doc. Sien.Spectro. physico-Chimie Structurale. Univ. Aix-Marseille, France: 186
- **Prieto P., Pineda M., Aguilar M., (1999).** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*, (269). 337-341.
- **Ravi b. N., Murphy P. T., Lidgard R. O., Warren R. G., Wells R. J. C., (1982).** 18 terpenoid metabolites of the brown alga *Cystophora moniliformis*, *Aust. J. Chem*, (35). 171-182.
- **Reichelt J L., Borowitzka M.A., (1983).** Antimicrobial activity from marine algae: results of a large-screening programme. *Proc. Int. Seaweed Symp*, (II).158 - 168.
- **Reichelt J. L., Borowitzka M.A., (1984).** Antimicrobial activity from marine algae: Result of à large screening programme, *Hydrobiol*, (1). 116/117.
- **Rivard-Sirois C., (2005).** les algues. 732.
- **Rorrer G.L., Cheney D.P., (2004).** Bioprocess engineering of cell and tissue cultures for marine seaweeds. *Aquacultural Engineering*, (32). 11-41.
- **Sarojini y., Lakshminarayana K., Seshagiri P., Rao., (2012).** Variations in distribution of flavonoids in some seaweed of Visakhapatnam coast of India. *Der Pharma Chemica*, 4 (4). 1481-1484.
- **Sava C., Sirbu R., (2010).** *Ovidius University Annals of Chemistry*. 21et 29-34.
- **Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K., (2006).** Structure radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*. 67et 2058-2070.
- **Shimizu H., (2004).** Relationship between plasma glutathione ievels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, 35 (9). 2072-2077.
- **Singleton V.L., Rossi J.A., (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, (16). 144-158.
- **Smit A. J., (2004).** Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: *Journal of appliedPycology*: 254-262.
- **Steinberg P.D., Schneider S., (1997).** Chemical defences of seaweeds against microbial colonization: *Biodegradation*. 211–220.



- **Sun T., Ho C.H., (2005).** Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem*, **(90)**. 743-749.
- **Tag J.R., Given A.R., (1979).** Assay system for bacteriocin. *Applied Microbiology*, **(21)**. 934.
- **Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., Oomah B.D., (1998).** Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric. Food Chem.***46(10)**. 4113-4117.
- **Viguerie N., Millet L., Avizou S., (2002).** Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone. *Journal Clin Endocrinol Metab*, **87(2)**. 630-4.
- **Watanabe F., Takenaka S., Katsura H., (1999).** Dried green and purple lavers (None) contain substantial amounts of biologically active vitamin B12 but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *Journal Agriculture Food Che.* 47et 2341-3.
- **Wright A. D., M. Konight G., Angerhofer C. K., Greenidge P., Linden A., Desquerouxfandez R., (1997).** Anti-malarial activity: the search for marine-derived natural products with selective anti-malarial activity, *Journal of Natural Products*, **(59)**. 710-716.
- **Yan X., Chuda Y., Suzuki M., (1999).** Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, common edible seaweed. *Biosci Biolechnol Biochem*, **(63)**. 605-7.
- **Yao H.W., Li J., Chen J.Q., Xu S.Y., (2004).** Inhibitory effect of leflunomide on hepatic fibrosis induced by CCl4 in rats, *ActaPharmacologica Sinica*. **25(7)**. 915-920.
- **Younes F, Etahiri S., Assobhei O., (2009) :** Activité antimicrobienne des algues marines de la lagune d'Oualidia (Maroc) : Criblage et optimisation de la période de la récolte. *J. Appl. Biosci.* **(24)**. 1543 – 1552.
- **Zheng Y., Chen Y.S., Lu H.S., (2001).** Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, **19 (4)**. 327-33.
- **Zubia D., Robledo D., Freile-Pelegrin Y., (2007).** Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan peninsula Mexico, *Journal of Applied Phycology*, **(19)**. 449-458.

# *Résumés*

الطحالب هي مصدر غني بالابيضيات , يحوي العديد منها على مركبات حيوية نشطة تمنع نمو بعض البكتيريا الممرضة سواء كانت ايجابية او سلبية الغرام, وايضا بعض الفطريات. من بين هذه المركبات الايضية نجد الفيتامينات و الاحماض الدهنية و مضادات الاكسدة مثل البوليفينولات.

في اطار تقييم الكتلة الحيوية لطحالب بحرية من الساحل الجزائري, ركزت هذه التجارب على الدراسة النباتية وتقييم الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للجراثيم لنوع من الطحالب البحرية المحلية التي تم جمعها من موقعين: شاطئ اليهود (عنابة) وشاطئ سيدي فرج (غرب العاصمة الجزائرية).

تشير النتائج الى مردود مرتفع من المستخلص الخام (9,2 بالمئة) عند الطحلب الاخضر "*Ulva lactuca*" فهو يتميز بنسبة عالية من اجمالي البوليفينولات ( $50.966 \pm 7.56 \mu\text{g EAG/mg extract}$ ) و نسبة متوسطة من مجموع العفص Les tannin ( $20,274 \mu\text{g EAG/ mg extract}$ ), بالنسبة لمركبات الفلافونويد فالمحتوى منها قليل جدا ( $0,823 \mu\text{g EQ/mg extract}$ ).

دراسة مضادات الاكسدة تمت بطريقتين: ارجاع الجذر DPPH و قياس إجمالي القدرة المضادة للأكسدة (CAT) وهاتان الطريقتين تمكنا من الكشف عن وجود خصائص مضادة للأكسدة للمستخلص المدروس.

النسبة المئوية للتثبيط المسجلة هي (10%) و التي ظهرت مع تركيز المستخلص الميثانولي (15%). اما بالنسبة لقياس إجمالي القدرة المضادة للأكسدة فقد قدرت ب ( $10,44 \mu\text{g EAA/gMS}$ ).

هذه النتائج تجعل من "*Ulva lactuca*" مصدرا واعدا في عالم مضادات الاكسدة الطبيعية.

تقييم المضادية البكتيرية للطحلب الاخضر "سلطة البحر" ضد اربعة انواع من البكتيريا, كشف عن تأثير مبيد بكتيري ضد *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella*, و ليس له تأثير على *Staphylococcus aureus*. ومن جهة اخرى لم يتم العثور على أي أثر ضد الفطريات *Aspergillus niger et Aspergillus flavus*. كل هذه النتائج لا تعتبر سوى الخطوة الأولى في البحث عن مواد طبيعية نشطة بيولوجيا من الطحالب البحرية. ومن المقرر اختبارات إضافية لتأكيد النشاط الحيوي من الطحالب البحرية.

**الكلمات المفتاحية:** طحلب, *Ulva lactuca*, مركبات فينولية, نشاط ضد بكتيري, مضادات الأكسدة.

Les algues sont une source potentiellement riche en métabolites. Beaucoup d'algues possèdent des composés bioactifs qui inhibent la croissance de certaines bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif ainsi que certains champignons. Parmi ces métabolites, on retrouve les vitamines, les acides gras, les antioxydants comme les polyphénols.

Dans le cadre de la valorisation de la biomasse algale marine des côtes Algériennes, cette étude se consacre à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne d'une espèce d'algue marine locale collectée de deux sites différents : Plage des Juifs (Annaba) et plage Sidi Fredj à l'Ouest d'Alger.

Les résultats indiquent un rendement élevé en extrait brut (9,2%). Par ailleurs, l'algue verte *Ulva lactuca* se caractérise par un taux important en polyphénols totaux ( $50,966 \pm 7,561$  mg EAG/mg extrait), une teneur moyenne en tanins totaux de (20,274 mg EAG/mg extrait) et une teneur faible en flavonoïdes de (0,823 mg EQ/mg extrait).

L'étude du pouvoir antioxydant par deux méthodes, le piégeage du radical DPPH, et la quantification de la capacité antioxydante totale, révèle la présence de propriétés antioxydantes pour l'extrait étudié. Le pourcentage d'inhibition le plus marquant (10%) est enregistré avec la concentration de l'extrait méthanolique (15 µg /ml) et l'activité antioxydante totale est évaluée à (10,44 µg EAA/g MS). Ce résultat fait de l'*Ulva lactuca* une source naturelle très prometteuse en antioxydants.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien sur quatre bactéries révèle un effet bactéricide de l'extrait de l'algue sur *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus* et aucun effet sur *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, aucun effet de l'extrait n'est constaté vis-à-vis des deux champignons: *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives à partir d'algues marines. Des essais complémentaires sont envisagés pour confirmer la bioactivité des algues marines.

Algae are a potentially rich source of metabolites. Many algae have bioactive compounds that inhibit the growth of certain pathogenic Gram positive bacteria and Gram-negative and certain fungi. Among these metabolites include vitamins, fatty acids, and antioxidants like polyphenols.

As part of the enhancement of the marine algal biomass of Algerian coast, this study focuses on phytochemical and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of a local marine algal species collected study of two sites: the Beach Jews (Annaba) and Sidi Fredj beach to the west of Algiers.

The results indicate a high yield of crude extract (9.2%). Moreover, the green alga *Ulva lactuca* is characterized by a high rate of total polyphenols ( $50.966 \pm 7.561$  mg EAG / mg extract), an average content of total tannins (EAG 20.274 mg / mg extract) and low flavonoids (0.823 mg EQ / mg extract).

The study of antioxidant by two methods, trapping DPPH radical, and quantification of total antioxidant capacity, reveals the presence of antioxidant properties to extract studied. The percentage of the most significant inhibition (10%) is registered with the concentration of the methanol extract (15 $\mu$ g / ml) and total antioxidant activity is evaluated (10.44  $\mu$ gEAA / gMS). This result of *Ulva lactuca* a very promising source of natural antioxidants.

Evaluation of the antimicrobial capacity of four bacteria reveals a bactericidal effect of the extract of the alga on *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Bacillus cereus* and no effect on *Staphylococcus aureus*. Moreover, no effect of the extract is found vis-a-vis the two fungi: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus Niger*.

All these in vitro results are only a first step in the search for biologically active natural substances from seaweed. Additional tests are planned to confirm the bioactivity of seaweed.

**Key words:** Algae, *Ulva lactuca*, phenolic compound, antimicrobial activity, antioxidant.

**Thème:****Etude des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique d'extraits d'algues marines d'origine Algérienne****Résumé:**

Les algues sont une source potentiellement riche en métabolites. Beaucoup d'algues possèdent des composés bioactifs qui inhibent la croissance de certaines bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif ainsi que certains champignons. Parmi ces métabolites, on retrouve les vitamines, les acides gras, les antioxydants comme les polyphénols.

Dans le cadre de la valorisation de la biomasse algale marine des côtes Algériennes, cette étude se consacre à l'étude phytochimique et l'évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne d'une espèce d'algue marine locale collectée de deux sites différents : Plage des Juifs (Annaba) et plage Sidi Fredj à l'Ouest d'Alger.

Les résultats indiquent un rendement élevé en extrait brut (9,2%). Par ailleurs, l'algue verte *Ulva lactuca* se caractérise par un taux important en polyphénols totaux ( $50,966 \pm 7,561$  mg EAG/mg extrait), une teneur moyenne en tanins totaux de (20,274 mg EAG/mg extrait) et une teneur faible en flavonoïdes de (0,823 mg EQ/mg extrait).

L'étude du pouvoir antioxydant par deux méthodes, le piégeage du radical DPPH, et la quantification de la capacité antioxydante totale, révèle la présence de propriétés antioxydantes pour l'extrait étudié. Le pourcentage d'inhibition le plus marquant (10%) est enregistré avec la concentration de l'extrait méthanolique (15 $\mu$ g/ml) et l'activité antioxydante totale est évaluée à (10,44  $\mu$ g EAA/g MS). Ce résultat fait de l'*Ulva lactuca* une source naturelle très prometteuse en antioxydants.

L'évaluation du pouvoir antimicrobien sur quatre bactéries révèle un effet bactéricide de l'extrait de l'algue sur *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Bacillus cereus* et aucun effet sur *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, aucun effet de l'extrait n'est constaté vis-à-vis des deux champignons: *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*.

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives à partir d'algues marines. Des essais complémentaires sont envisagés pour confirmer la bioactivité des algues marines.

**Mots clés:** Algues, *Ulva lactuca*, composés phénoliques, activités antimicrobiennes, pouvoir antioxydant

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'activité Microbienne (LaMyBAM),  
Université des Frères Mentouri Constantine

**Jury d'évaluation:**

<b>Président du jury:</b> Mr. DEHIMAT L	Professeur	Université des Frères Mentouri Constantine
<b>Encadreur:</b> Mme. ZITOUNI H	Maitre Assistant B	Université des Frères Mentouri Constantine
<b>Examinatrice:</b> Mme. YOUCEF ALI M	Maitre de Conférences B	Université des Frères Mentouri Constantine

**Date de soutenance:** 23/06/2016

