République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure Vétérinaire

ENSV
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE
ALGER

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de Master

En vue de l'obtention du
Diplôme de Master Complémentaire en sciences vétérinaire

THÈME

Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des extraits d'algues marines (*Cystoseira elegans, Cystoseira barbata, Dilophus fasciola*)

Présenté par : MEGDOUD Dihia Zohra

Soutenu le : 09 Mars 2019

Devant le jury composé de :

Président du jury :	Dr MOHAMMEDI D	Maitre de conférences A ENSV
Promoteur :	Dr YAHIAOUI F	Maitre de conférences B ENSV
Examinateur1 :	Dr BOUHAMED R	Maitre-Assistant A ENSV
Examinateur 2 :	Dr BOUAYAD L	Maitre de conférences A ENSV

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Les premiers mots de remerciements qui me viennent à l'esprit sont d'abord adressés à ma promotrice, ***Dr. YAHIAOUI Fatima*** : merci d'avoir accepté de m'encadrer et de m'avoir fait confiance. Votre soutien, votre patience ainsi que votre présence m'a aidé avancer ; vous m'avez appris tellement de choses et je vous en suis profondément reconnaissante.

Je tiens également à remercier le ***DR. MOHAMMEDI*** d'avoir fait l'honneur de présider le jury et j'espère qu'il appréciera ce modeste travail.

Je remercie également mes examinatrices : ***Dr. BOUAYAD L.*** Et ***Dr. BOUHAMEDR.*** D'avoir accepté de prendre en charge l'examination de ce travail.

Merci également à toutes les personnes qui ont contribué au bon déroulement de ce projet.

Les derniers mots de remerciements, et sans doute les plus importants, vont à Dieu tout puissant, grâce à qui j'avais eu la force d'avancer, toujours avec le sourire et la bonne humeur.

Dédicace

Je dédie ce travail

À ma très chère maman **Saliha,**

à qui je dois la réussite, pour l'éducation qu'elle m'a prodiguée ; avec tous les moyens et au prix de tous les sacrifices qu'elle a consenti à mon égard, pour le sens du devoir qu'elle m'a enseignée depuis mon enfance.

À mon père **Djemaa,**

Qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent que tu m'as inculquée.

À ma petite sœur adorée **Liza,**

Les mots me manquent pour exprimer tout ce que tu représentes pour moi, merci pour ton soutien moral, je t'aime ma sœurette.

À mes amis grâce à qui j'ai passé de bons moments et d'agréables souvenirs, spécialement **Mou,** je ne pourrais jamais te remercier assez de m'avoir encouragée et d'avoir été toujours présent, merci tout simplement.

Ma chère copine **Maissa,** ma douce et adorable amie qui m'a soutenue et encouragée pendant tous les moments, tu as su me remonter le moral. Les mots ne suffiront pas pour te remercier pour les moments passés ensembles. Que l'amitié qui nous a réunies persiste pour toujours.

À ma grande famille maternelle et paternelle, mes cousins et cousines, spécialement **Amal, Dyhia, Ouahiba, Amina, Lina** et la liste est longue…, car issue d'une famille nombreuse, je ne peux tous les nommer, qu'ils me pardonnent.

Table des illustrations

Liste des figures

Figure 1: Dilophus fasciola 12
Figure 2: Zonaria tournefortii.....13
Figure 3: Cystoseira barbata.....15
Figure 4 : Spécimen de Cystoseira elegans 16
Figure 5: Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène 19
Figure 6: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production 24
Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....30
Figure 8 : Les différentes teneurs en PPT dans les divers extraits algaux 30
Figure 9 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par la quercitrine 33
Figure 10 : Inhibition du DPPH par l'extrait de Cystoseira elegans 33
Figure 11 : Inhibitions du DPPH par l'extrait de Cystoseira barbata 34
Figure 12 : Inhibition du DPPH par l'extrait de Dilophus fasciola 34
Figure 13 : Inhibition du DPPH par l'extrait de Zonaria tournefortii 35
Figure 14 : Les différentes valeurs d'IC50 des extraits et de la quercétine.....36
Figure 15 : Le pouvoir réducteur de la quercétine 37
Figure 16 : Le pouvoir réducteur des différents extraits, exprimés en (mg EQ/ g d'extrait) ...38

Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples de l'effet pharmacologique de certaines espèces d'algues 11
Tableau 2 : Taxonmie de Dilophus fasciola 12
Tableau 3 : Taxonomie de Zonaria tournefortii.....14
Tableau 4 : Taxonomie de Cystoseira barbata.....14
Tableau 5 : Taxonomie de Cystoseira elegans 16
Tableau 6 : Les espèces réactives de l'oxygène 18
Tableau 7 : Matériel et réactifs de laboratoire 26
Tableau 8 : Table de la variance de la densité optique de l'acide gallique.....31
Tableau 9 :Table de la variance de l'effet de l'espèce sur l'IC50 36
Tableau 10 :Table de la variance de l'effet de la concentration sur la DO de quercétine 38
Tableau 11 : Table de la variance ANOVA factoriel montrant l'effet de l'espèce et de la concentration sur le pouvoir réducteur 39

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

Cm : Centimètre. Cm2 : Centimètre carré.

°C : Degré Celsius.

DO : Densité optique.

ERO : espèces réactives d'oxygènes.

Fer2+ : fer ferreux

Fer3+ : Fer ferrique

FeCl3 : Chlorure ferrique à 2%.

GAE : Gallique Acide Equivalent.

g : Gramme.

GAE : Equivalent acide gallique

h : Heure.

IC50 : Concentration Inhibitrice médiane.

H2O2 : Peroxyde d'hydrogène

PPH : 2-2 Diphényl-1-Picrylhydrazyl.

PH : Potentiel d'hydrogène.

M : Masse molaire.

PE : pyrocatechol equivalents

nm : nanomètre.

ml : millimètre.

rpm : rotation par minute.

J : Jour

Kg : Kilogramme.

mg : Milligramme.

min : Minute.

mL : Millilitres.

nm : Nanomètre.

g : gramme.

Na2CO3 : Carbonate de sodium.

PPT : Poly Phénols Totaux.

QE : Quercétine Equivalent

GPX : Glutathion péroxydase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé

NO. : Oxyde nitrique

NO3 : Nitrate

NOS: l'oxyde nitrique synthase

O2.- : Anion superoxyde

O21 : Oxygène singulet

OH. : Radical hydroxyle

ONOO- : Peroxynitrite

ROO : Radical peroxyle

ROOH : Peroxydes lipidiques

SOD : Superoxyde dismutase

UV: Ultra-Violet.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

% : Pourcent.

Table des matières

Introduction……1

Partie bibliographique

1. Généralités sur les algues marines 3
1.1. Définition et description 3
1.2. Classification des algues marines 3
1.2.1. Les cyanophytes : 3
1.2.2. Les chlorophytes 4
1.2.3. Les algues brunes (Phéophytes) 4
1.2.4. Les algues rouges (Rhodophytes) 4
1.2. La valorisation et l'utilisation des algues marines 5
1.2.1. En agriculture 5
1.2.2. En alimentation 5
1.2.3. En agro-alimentaire 6
1.2.4. En médecine 6
1.3. La composition bioactive d'algues 7
1.3.1. Le D-mannitol : 7
1.3.2. Les pigments caroténoïdes 7
1.3.3. Les phycocolloïdes 8
1.3.4. Les pigments caroténoïdes : 8
1.3.5. Les polyphénols 8
1.3.6. Les alcaloïdes : 9
1.3.7. Les terpénoides : 9
1.3.8. Les stérols 10
1.4. Les effets pharmacologiques des algues marines 10
2. Caractéristiques générales des espèces d'algues étudiées 11
2.1. Dilophus fasciola 11
2.1.1. Description 11

2.1.2. Distribution géographique....12
2.1.3. Taxonomie....12
2.1.4. Propriétés biologiques....12
2.2. Zonaria tournefortii....13
2.2.1. Description....13
2.2.2. Distribution géographique....13
2.2.3. Taxonomie....13
2.3. Cystoseira barbata....14
2.3.1. Taxonomie....14
2.3.2. Description....14
2.3.3. Distribution géographique....15
2.3.4. Utilisation de l'algue....15
2.4. Cystoseira elegans....15
2.4.1. Description....15
2.4.2. Taxonomie....16
2.4.3. Distribution....16
2.4.4. Composition....16
3. Les radicaux libres et le stress oxydatif....17
3.1. Les radicaux libres....17
3.1.1. Définition des radicaux libres....17
3.1.2. Les différents types de radicaux libres....17
3.1.3. Les sources des espèces réactives d'oxygène (ERO)....19
3.2. Stress oxydatif....20
3.2.1. Définition du stress oxydant....20
3.2.2. Les conséquences du stress oxydant....20
3.2.3. Système de défense d'antioxydants....20
3.2.3.1. Le système enzymatique....20
3.2.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)....20
3.2.3.1.2. Les glutathion peroxydases (GPxs)....21
3.2.3.1.3. Le système thiorédoxine....21
3.2.3.1.4. La catalase....21
3.2.3.2. Le système non enzymatique....21
3.2.3.2.1. Le glutathion et les protéines-thiols....21

3.2.3.2.2. La vitamine C 22
3.2.3.2.3. La vitamine E 22
3.2.3.2.4. Les caroténoïdes 22
3.2.3.2.5. Le Coenzyme Q10 23
3.2.3.2.6. L'acide urique 23
3.2.3.2.7. La bilirubine 23
3.2.3.2.8. Les polyphénols 23
3.2.3.2.9. Les oligoéléments 24

Partie expérimentale

I. Objectif et problématique 25
II. Matériel et méthodes 26
1. Matériel 26
1.1. Matériel de laboratoire 26
1.2. Matériel biologique (extraits) 27
2. Méthodes 27
2.1. Dosages des polyphénols totaux 27
2.2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante : 28
2.2.1. Le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ..28
2.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur par le FRAP (Ferric Ion Reducing Antioxydant Power) : 28
III. Analyse statistique : 29
IV. Résultats et discussions : 29
1. Dosage des polyphénols totaux : 29
2. Le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 32
3. Le pouvoir réducteur FRAP : 37
4. Discussion de PPT et activité antioxydante DPPH et pouvoir réducteur FRAP : 39
V. Conclusion : 42

INTRODUCTION

Introduction

Depuis la préhistoire, les végétaux ont été constitué un pilier majeur des thérapies médicinales, jusqu'à la mise en place des produits synthétiques dans le dix-neuvième siècle**.** En effet les espèces végétales constituent une importante source dans l'élaboration de produits thérapeutiques particulièrement dans le domaine médical et pharmaceutique. **(Djeridane *et al,* 2006).**

Parmi les végétaux ayants prouvés leur grand effet thérapeutique, les algues marines en ont une grande part. Celles-ci sont définit comme étant un ensemble d'organismes photosynthétiques. 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**).

Avec ses 1200 Km de façade maritime, l'Algérie dispose d'une flore marine très riche et diversifiée. Des travaux ont permis de répertorier près de 468 espèces d'algues **(ONS, 2006).** Malgré l'intérêt des algues dans différents domaines, peu d'études ont été consacrées à l'étude évaluant leur potentiel biologique.

Un grand intérêt est porté sur les algues pour leur richesse en métabolites primaires et secondaires et elles représentent une source potentielle de molécules bioactives à structure chimique originale plus particulièrement d'antioxydants naturels **(Glombitza et *al.*, 1979; Smit.,2004; Bengueddour *et al.*, 2014).** En effet, ces antioxydants naturels peuvent contribuer dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif, défini comme un déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité du corps à les neutraliser, et à réparer les dommages oxydatifs. Ils peuvent prévenir et lutter contre les pathologies liées à la formation de dérivés hautement toxiques **(Bengueddour et *al.*, 2014).**

L'importance de l'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants a été démontré dans certaines études réalisées en médecine vétérinaire, chez le cheval en période d'exercice intense, les porcelets en période de sevrage mais également en chez les carnivores pour prévenir certaines maladies (arthroses, cancers et des cardiopathies) **(DE MOFFARTS et *al* .,2005 ; ROBERT et *al.*, 2009 ; PASTRE et PRIYMENKO., 2007).**

Introduction

La présente étude a pour but d'évaluer l'activité antioxydante des espèces d'algues brunes à savoir ***Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, Dilophus fasciola, Zonaria tournefortii.***

Parmi les nombreuses méthodes utilisées pour l'étude de l'activité antioxydante des végétaux ou de leurs extraits, nous avons opté pour deux méthodes complémentaires, à savoir le pouvoir réducteur du fer et le piégeage du radical DPPH.

Bibliographie

1. Généralités sur les algues marines

1.1. Définition et description

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques chlorophylliens très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé « thalle » **(Ainan., 2011)**.

Elles se développent dans les eaux des mers, des lacs, des marées, des eaux courantes et des eaux thermales mais également sur les rochers humides et sur la terre. Exceptionnellement, elles peuvent être endophytes de tissus animaux ou végétaux. Pour leur développement, celles-ci ont besoin d'air, de lumière, d'eau et de sels dissous **(Iltis.,1980).**

Les algues ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur **(Ainan., 2011).** Elles constituent un ensemble hétérogène d'embranchements qui se différencient cytologiquement, biochimiquement, mais également selon leur structure et leur mode de reproduction.

Les algues peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires, formant ainsi des thalles sans feuilles, ni tiges, ni racines, ni même des vaisseaux conducteurs **(Iltis.,1980).**

Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal **(Ainan., 2011).**

1.2. Classification des algues marines

Les algues sont regroupées avec les champignons dans la division des Thallophytes et sont divisées en plusieurs embranchements en se basant sur la nature des pigments :

1.2.1. Les cyanophytes :

Appelées aussi Algues bleues ou Schizophytes ou encore Myxophytes, les Cyanophytes sont des procaryotes c'est à dire ne possèdent pas de noyau à membrane définie, ce qui justifie leur dénomination appliquée actuellement « Cyanobactéries » et plutôt abondantes dans les eaux douces africaines **(Iltis.,1980).**

En outre, les cyanophytes sont appelées algues bleues mais paradoxalement sont rarement de cette couleur, le plus souvent sont rouges, parfois vertes avec des reflets bleutés, violets, bruns, jaunes ou orangés **(Ainan., 2011)**, en raison de la diversité des pigments qu'elles contiennent, notamment : la chlorophylle verte **a** et **c**, la phycocyanine bleu-vert, la phycoérythrine rouge et les pigments d'accompagnement béta-carotène et xanthophylles jaunes ou ochracés **(Iltis.,1980).**

Ce sont des organismes formés de cellules ou de filaments microscopiques, mais qui se développent souvent simultanément pour constituer soit des colonies visibles à l'œil nu, soit des populations très importantes formant des « fleurs d'eau». Celles-ci sont exploitées depuis longtemps dans certaines régions (spirulines au Tchad ou au Mexique par exemple) **(FAO.,1987)**.

1.2.2. Les chlorophytes

Les chlorophytes sont des eucaryotes à noyau bien individualisé ; elles possèdent des plastes d'un vert franc contenant de la chlorophylle ***a*** et ***b*** ce qui leur confère la couleur verte, associée à alpha et beta carotène**,** ce donne une couleur orangée à jaunâtre aux thalles. Elles contiennent également des xanthophylles identiques à celle des plantes supérieures et des oxycarotènes (lutéines, zéaxanthines, violaxanthine). La plupart des espèces de ce genre vivent dans les eaux douces mais se retrouvent également dans les milieux aquatiques **(Bezanger et al., 1990 ; Iltis.,1980 ; Ainan., 2011).**

1.2.3. Les algues brunes (Phéophytes)

Ce sont des algues de couleur brune ou olivâtre, jamais unicellulaires, à appareil végétatif souvent complexe. Les cellules, uninucléées, renferment des plastes (phéoplastes) pourvus de chlorophylles **a** et **c** et des quantités notables de caroténoïdes (fucoxanthine en particulier) **(Ozenda, 2000).**

Les algues brunes se sont principalement diversifiées dans les mers froides et tempérées où elles forment les grandes forêts sous-marines. Dans les eaux tropicales, elles sont moins nombreuses en espèces, mais représentent les plus grands thalles et forment les populations les plus denses **(Ainan., 2011).**

1.2.4. Les algues rouges (Rhodophytes)

Les algues rouges sont, le plus souvent, des algues marines et leur présence dans les eaux douces se limite à une trentaine de genres peu fréquents. Leurs pigments sont constitués par des chlorophylles **a** et **d**, des **α** et **β**carotènes, des xanthophylles et des biliprotéines (Phycoérythrine et Phycocyanine). En eau douce, la couleur des Rhodophytes est bleu-vert, rouge-violacé, très souvent vert sale ou vert noirâtre, par contre, elles ne sont pas de forme flagellée **(Iltis.,1980).**

De plus, pour une même espèce, la couleur varie en fonction de l'exposition aux rayons lumineux : souvent les individus qui se développent aux forts éclairements montrent des

couleurs délavées, où dominent les jaunes orangés en raison de la forte concentration en pigments caroténoïdes photoprotectants **(Ainan., 2011).**

1.2. La valorisation et l'utilisation des algues marines

1.2.1. En agriculture

Les algues (goémon) et les accumulations d'algues calcaires sont utilisées dans certaines régions comme engrais **(Iltis.,1980 ; Ainan., 2011).** Le maërl, une algue rouge calcifiée, était également utilisé pour l'amendement**(Ainan., 2011).**

Les algues brunes, sont utilisées en horticulture et en agriculture pour plusieurs raisons, leur contenu élevé en alginate améliore la structure des sols, retient l'humidité et favorise la croissance racinaire. Leur richesse en minéraux et en oligoéléments fait un excellent fertilisant. De plus, certains des oligosaccharides contenus dans les algues brunes ont la propriété de stimuler le système immunitaire des plantes, ce qui augmente leur résistance au stress et aux pathogènes comme les virus, les bactéries et les champignons **(Lionard et *al.*,2014)**.

1.2.2. En alimentation

Les algues sont de plus en plus considérées comme un aliment à part entière,en raison de leur forte teneur en fibres, minéraux, nutriments et de leur faible taux en gras. Le marché de l'algue légume est donc en pleine expansion en Occident et les sources d'algues de bonnes qualités sont de plus en plus recherchées **(Lionard et *al.*,2014)**.

Entre autres, les algues échouées ou cueillies servent d'alimentation pour les animaux en Europe, depuis des centaines d'années. De récentes études scientifiques ont démontré qu'un ajout de 5 à 10 % d'algues dans la ration alimentaire des animaux a un effet bénéfique. Les algues possèdent des minéraux associés à des fibres, des protéines, des vitamines et des lipides qui permettent d'améliorer la santé générale et la performance des animaux. De plus, la forte concentration des algues en pigments caroténoïdes permet de donner une meilleure coloration aux œufs des volailles ainsi qu'une couleur rosée à la chair des poissons d'élevage **(Lionard et *al.*,2014)**.

En outre, pour les chats, les algues peuvent aussi être une source naturelle de taurine, un acide aminé indispensable à la vue, au fonctionnement du muscle cardiaque et à la reproduction dont l'alimentation est la seule source **(Lionard et *al.*,2014)**.

Elles sont fréquemment utilisées comme complément alimentaire dans la nourriture des chiens et des chats afin de rendre leur poil soyeux et dense. Les algues améliorent également la qualité de la viande et permettent d'obtenir une viande avec une certification biologique qui ajoute à sa valeur de revente **(Lionard et *al.*,2014)**.

1.2.3. En agro-alimentaire

La gélose et les alginates sont utilisés comme agents émulsifiants, épaississants, stabilisants et gélifiants **(Ainan., 2011).** Certaines algues marines sont récoltées pour en extraire des colloïdes (agar-agar, carragahénine), qui sont utilisé pour les cultures de bactéries, de champignons dans les laboratoires et industries pharmaceutiques **(Iltis., 1980).**

1.2.4. En médecine

Plusieurs composés chimiques isolés des macro-algues et micro-algues sont biologiquement actifs, dont certains possèdent une activité pharmacologique utilisés en médecine. Parmi ces algues on peut trouver ; ***Hypnea Carragheen*** et ***Phyllophora*** qui possède des propriétés laxatives ou vermifuges et anticoagulantes respectivement **(Ainan., 2011).**

Chllorella vulgaris est l'espèce la plus connue dans la classe des microalgues, elle est utilisée dans le domaine thérapeutique pour traiter la défaillance rénale et promouvoir l'effet de la croissance des lactobacilles intestinales. Il a été rapporté également qu'elle prévient le stress oxydatif et les dommages cellulaires au niveau rénal. Un polysaccharide isolé à partir d'algues brunes a récemment fait l'objet d'un essai clinique de phase II en Chine, pour être le candidat le plus opportun contre le sida.

La thérapie à base de cytokines a connu une intéressante amélioration, grâce à la composition bioactives d'algues (les polysaccharides sulfatés purifiés à partir de l'algue verte ***Codium fragile,*** le fucoïdane et carraghénane, isolés des algues brunes et rouges, respectivement) **(Souheili et Darani.,2011).**

1.3. La composition bioactive d'algues

L'industrie cosmétique, agroalimentaire et pharmaceutique s'intéressent de plus en plus aux algues en raison de leur richesse en produit naturel bénéfique pour la santé. De nos jours, les algues sont intégrées à de multiples produits sur le marché **(Jégou.,2011)**.

Les substances naturelles de macro-algues marines présentent une grande variété d'activités biologiques, néanmoins les investigations actuelles sont essentiellement portées sur leurs propriétés cytotoxiques et antibiotiques. Cependant, ces nouvelles molécules actives sont issues d'un nombre assez restreint d'espèces, qui attirent l'attention des chercheurs, comme les espèces des genres ***Dictyota*** et ***Sargassum*** (algues brunes) ainsi que ***Laurencia*** (algues rouges) **(Jégou.,2011).**

Entre les trois grandes classes de macro-algues marines, la variété des substances naturelles est inégalement répartie. Les algues rouges (classe des Rhodophyceae) représentent la plus grande richesse chimique, et près de la moitié des nouvelles molécules décrites sont issues du genre ***Laurencia***. La plupart des découvertes actuelles concernent des dérivés terpéniques bromés ou chlorés, de type diterpènes et sesquiterpènes.

Au contraire, on ne reporte chez les algues vertes (classe des Chlorophyceae) que très peu de molécules originales, principalement des terpènes, similaires à ceux rencontrés chez les algues rouges, mis à part qu'ils ne sont pas halogénés **(Jégou.,2011).**

Parmi les molécules bioactives provenant d'algues et utilisées fréquemment, on retrouve :

1.3.1. Le D-mannitol :

Le D-mannitol présente un grand intérêt pour l'industrie alimentaire, puisque c'est un additif (E421) utilisé comme sucre naturel, mais également dans le domaine médical, puisqu'il pourrait intervenir notamment dans les traitements visant à réduire la pression intracrânienne et les insuffisances rénales **(Lionard.,2014).**

1.3.2. Les pigments caroténoïdes

Les pigments caroténoïdes sont utilisés comme des colorants depuis des centaines d'années, mais ils sont aussi connus pour être des antioxydants naturels et sont donc de plus en plus utilisés dans les cosmétiques et dans l'alimentation animale **(Lionard., 2014)**, pour améliorer la couleur du jaune d'œuf et l'aspect de la chaire des poissons.

La médecine s'intéresse aussi à ces pigments qui auraient un effet bénéfique sur le système immunitaire et de nombreuses maladies. La fucoxanthine est un pigment caroténoïde qui

possède une activité antioxydante, une activité inflammatoire, il a tendance à diminuer le glucose du sang et aurait un impact sur l'insuline **(Chouikhi.,2013).**

1.3.3. Les phycocolloïdes

Les phycocolloïdes sont des colloïdes végétaux extraits des algues et se divisent en trois familles : les agars, les carraghénanes et les alginates. Seuls les alginates se retrouvent dans les algues brunes ; alors que les agars et les carraghénanes sont produits par les algues rouges **(Lionard., 2014).**

En outre, les phycocolloïdes sont des polysaccharides complexes dont les propriétés gélifiantes, stabilisantes et épaississantes sont utilisées dans des domaines variés.

Les alginates sont des additifs regroupés sous les codes allant d'E400 à E407. En effet, près d'un million de tonnes d'algues fraîches, par an, est utilisé dans le monde pour extraire ces composés. Les phycocolloïdes représentent ainsi le second grand secteur d'exploitation mondiale des algues après l'alimentation humaine **(Lionard., 2014).**

1.3.4. Les pigments caroténoïdes :

Les pigments caroténoïdes sont utilisés comme des colorants depuis des centaines d'années, mais ils sont aussi connus pour être des antioxydants naturels et sont donc de plus en plus utilisés dans les cosmétiques et dans l'alimentation animale **(Lionard., 2014)**, pour améliorer la couleur du jaune d'œuf et l'aspect de la chaire.

La médecine s'intéresse aussi à ces pigments qui auraient un effet bénéfique sur le système immunitaire et de nombreuses maladies. La fucoxanthine est un pigment caroténoïde qui possède une activité antioxydante, une activité inflammatoire, il a tendance à diminuer le glucose du sang et aurait un impact sur l'insuline **(Chouikhi.,2013).**

1.3.5. Les polyphénols

Les polyphénols appelés également les phlorotannins **(Lionard., 2014),** ils sont des biopolymères de taille très variable **(Jégou,2011).** Elles constituent un groupe hétérogène de molécules (structure et degrés de polymérisation), ce qui leur confère une variété d'activités biologiques potentielles **(Chouikhi.,2013).**

Elles sont présentes majoritairement dans les algues brunes et connues comme étant des antioxydants, en effet les phlorotannins isolés de l'algue brune « ***Eisena bicyclis*** » ont une activité antioxydante **(Chouikhi.,2013)**.

Néanmoins de nombreuses activités biologiques leur sont associées, tout particulièrement dans le secteur biomédical, pour les phlorotannins *d'**Ecklonia cava***, ils ont une activité anti-VIH ; protège contre les rayons ionisants ; améliore la mémoire lors de troubles dégénératifs du cerveau et ils ont une activité hépato-protectrice, idem pour ceux isolées de l'algue brune

« ***Ecklonia stolonifera*** » **(Jégou.,2011 ; Chouikhi.,2013).**

Les phlorotannins sont également antiprolifératives (inhibent la prolifération des cellules cancéreuses), anti-inflammatoire, contre l'hypertension **(Chouikhi.,2013).** Entre autres, ils ont de multiples rôles cellulaires (de la constitution de la paroi aux voies de signalisation cellulaire) et plus encore de rôles écologiques (activité anti-herbivore) **(Jégou.,2011).**

1.3.6. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes représentent les composés azotés retrouvés dans les algues mais ne sont pas très répandus. Ceux isolés majoritairement dans les algues sont les : phényléthylamine alcaloïdes, mais on retrouve également les indoles et les alcaloïdes indoliques halogènes.

Ils sont dotés de plusieurs activités pharmacologiques, les alcaloïdes retrouvés dans l'espèce

«***Enteromorpha intestinals***» sont cytotoxiques pour les cellules de la leucémie lymphocytaire, et ceux isolés dans « *Ulva sp.* » sont antispasmodiques et antibactériens **(Chouikhi.,2013).**

1.3.7. Les terpénoides :

Les terpénoides sont des métabolites secondaires constitués d'unités isoprénoides (C5). Ils se divisent en plusieurs catégories : monotèrpènes, diterpènes, triterpènes, sesquiterpènes et tetraterpènes **(Chouikhi.,2013).**

Ces biomolécules sont impliquées dans la défense chimique des macro-algues, elles peuvent ainsi être synthétisées en réponse à une agression extérieure, comme celle d'un herbivore par exemple **(Jégou.,2011).**

La grande diversité des structures des terpénoides et leurs fonctions ont suscité un intérêt accru pour leur usage commercial. Ils sont utilisés dans la prévention de plusieurs maladies et

ont des diverses propriétés pharmacologiques : antimicrobienne, antifongique, antiparasitaire, anti-allergénique, antispasmodique, anti-hyperglycémiant et anti inflammatoire **(Chouikhi.,2013).**

Parallèlement, l'activité anti-fouling de nombreux terpénoïdes a été démontrée, précisément chez ***Bifurcaria bifurcata***, ***Halidryssiliquosa*** *et* ***Cystoseira baccata*** quiont montré une activité anti-fouling significative **(Jégou., 2011).**

1.3.8. Les stérols

Les stérols sont des alcools polycycliques partiellement insaturés universellement répandus dans les cellules vivantes animales et végétales. Ils possèdent plusieurs rôles, ils sont généralement composants des membranes cellulaires, d'hormones et précurseurs d'hormones, de précurseurs de stéroïdes, d'agent de croissance, d'inhibiteur ou activateur de la croissance des plantes **(Ainan., 2011).**

Les études antérieures sur les stérols des algues ont montré que toutes les espèces d'algues brunes de la famille des cystoseiracées étudiés présentent qualitativement les mêmes stérols, à savoir, le cholestérol, le fucostérol, le Δ5-avénastérol, le β-sitostérol, le 24-méthylènecholestérol et le brassicastérol **(Ainan., 2011).**

1.4. Les effets pharmacologiques des algues marines

Plusieurs études ont démontré l'effet prometteur de l'utilisation des préparations algales en phytothérapie. En effet l'augmentation, du nombre de produits commercialisés a été la plus rapide et la plus spectaculaire dans ce domaine. La raison essentielle est l'attraction de certaines populations vers l'exploitation et l'utilisation de produits de la mer **(FAO., 1987).**

Les algues sont dotées de différentes activités : biologique, hypocholestérolémiante, anticoagulante, antibactérienne, antivirale, anti-tumorale, antifongique et anti-oxydante **(Sadi.,2010 ; Alejandro MS. M, 2007).**

Citons quelques exemples d'effets pharmacologiques de certaines algues marines, représentés dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1: Exemples de l'effet pharmacologique de certaines espèces d'algues

(Tableau personnel)

Espèce	Effet pharmacologique
Cystoseira barbata	Anti-inflammatoire et analgésique **(CHATTER RIAHI et *al.*,2011)**
Sargassum vulgare	
Laurencia glandulifera	
Hypnea musciformis	
Enteromorpha linza	Antifongique (contre *Aspergilus niger*) **(Ömer et Beyhan., 2011)**
Padina pavonica	
Cladophora glomerata	Antibactérien (contre S*taphylococcus aureus*) **(Ömer et Beyhan., 2011)**
Cystoseira tamariscifolia	Antibactérien (Contre *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoni*) **(Ainan., 2011)**
Bifurcaria bifurcata	
Digenea simplex	Anthelminthique **(Chouikhi.,2013).**
Corallina officinalis	
Sargasum tortile	Anti-tumoral **(Chouikhi.,2013).**
Ecklonia cava	Anti-VIH **(Jégou.,2011).**
Sargassum ringoldianum	Antiviral **(Park et *al.*, 2005).**

2. Caractéristiques générales des espèces d'algues étudiées

2.1. *Dilophus fasciola*

2.1.1. Description

Dilophus fasciola, du grec « dictyota » qui veut dire en forme de filet et *fasciola* : du latin « fasciolum » qui signifie petit ruban.

C'est une grande algue, souple, de couleur brun jaune, fixée sur la roche par une base discoïde, avec un axe unique, court, cylindrique et un sommet de teinte plus claire, saillant, nu, tronqué et lisse.

Elle possède de longs rameaux souples, minces et cylindriques, ramifiés (figure 1). Elle possède également des aérocystes (flotteurs) fusiformes souvent en chapelets **(LAMARE et VERLAQUE., 2015).**

Figure 1: *Dilophus fasciola* **(LAMARE et VERLAQUE., 2015)**

2.1.2. Distribution géographique

Dictyota fasciola est présente en Méditerranée, Atlantique Est tempérée (de la Manche au Cap Vert, Açores, îles Canaries). Les signalisations dans les autres mers du globe nécessitent confirmation **(LAMARE et VERLAQUE., 2015).**

2.1.3. Taxonomie

Le tableau 2 représente la taxonomie de ***Dilophus fasciola.***

Tableau 2: Taxonmie de *Dilophus fasciola* (LAMARE et VERLAQUE., 2015)

Espèce	Nom commun	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre
Fasciola	Dictyote bandelette /Dictyote Rubannée	Ochrophyta	Phaeophyceae	Dictyotales	Dictyotaceae	Dictyota

2.1.4. Propriétés biologiques

Les algues brunes de la famille des Dictyotaceae ont fait l'objet de plusieurs études approfondies au cours des cinq dernières décennies. A ce jour près de 500 nouveaux métabolites secondaires ont été découvert, la majorité des sesquiterpènes et des diterpènes, présentant souvent des propriétés antibactériennes, antivirales, anti-fouling **(Efstathia et *al*, 2013).**

2.2. Zonaria tournefortii

2.2.1. Description

Cette algue foliacée présente des lobes dichotomes, avec des stries concentriques. Sur la marge du thalle est présente une rangée de cellules initiales marginales assurant la croissance apicale. Une nervure centrale de couleur rougeâtre est visible à la base du thalle, mais s'estompe rapidement.

Le thalle, de couleur brun jaunâtre, peut atteindre 20 cm de hauteur (figure 2) **(LAMARE et DUPRÉ., 2017).**

Figure 2: *Zonaria tournefortii* **(LAMARE et DUPRÉ., 2017).**

2.2.2. Distribution géographique

Cette algue est pantropicale, c'est-à-dire elle est répandue dans de nombreuses mers chaudes et océans sans intervention humaine. Elle est présente en Méditerranée (sauf dans le golfe du Lion et l'Adriatique), en Atlantique Est (îles des Açores, Madère, Canaries, Cap Vert, côtes d'Afrique jusqu'à l'Afrique du Sud), en Amérique du Nord (les deux Caroline), en mer des Caraïbes et au Brésil (**LAMARE et DUPRÉ.,2017).**

2.2.3. Taxonomie

Le tableau 3 représente la taxonomie de ***Zonaria tourneforti***

Espèce	Nom commun	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre
Tournefortii	Zonée Jaune	Ochrophyta	Phaeophyceae	Dictyotales	Dictyotaceae	Zonaria

Tableau 3: Taxonomie de *Zonaria tournefortii* **(LAMARE et DUPRÉ., 2017).**

2.3. Cystoseira barbata

2.3.1. Taxonomie

Le tableau 4 représente la taxonomie de *Cystoseira barbata*.

Tableau 4: Taxonomie de *Cystoseira barbata* **(WACQUANT et *al.*, 2013)**

Espèce	Nom commun	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre
Barbata	Cystoseire dorée	Ochrophyta	Phaeophyceae	Fucales	Sargassaceae	Cystoseira

2.3.2. Description

Cystoseira barbata est une grande algue souple de couleur brune jaune, avec un port dressé grâce à des flotteurs (aérocystes). Sa hauteur varie entre 15 cm et 1,3 m.

Elle est fixée sur la roche par une base discoïde d'où part un axe unique, court et cylindrique. Cette «tige» qui peut mesurer 1 à 30 cm, a un sommet, de teinte plus claire, lisse, longuement saillant et paraissant tronqué. Cet axe engendre de longs rameaux souples, minces et cylindriques (diamètre : 1 à 2 mm et longueur jusqu'à 80 cm) couverts de cryptes pilifères. Ces rameaux primaires sont eux-mêmes ramifiés **(WACQUANT et *al.*, 2013).**

Figure 3: *Cystoseira barbata* **(WACQUANT et *al.*, 2013).**

2.3.3. Distribution géographique

Cystoseira barbata se retrouve principalement en méditerranée, en mer noire, en atlantique Nord, à l'Est du Portugal, aux îles Canaries et à l'océan Indien (Inde et Pakistan) **(WACQUANT et *al.*, 2013).**

2.3.4. Utilisation de l'algue

Cystoseira barbata est riche en alginates (jusqu'à 35% de sa matière sèche), en stérols, dérivés terpéniques et phénoliques et ses extraits ont des propriétés bactéricides. En mer Noire, la forme libre (f. *aurentia*) a fait l'objet d'essais de production d'une part en fertilisant des baies et d'autre part en tentant de la cultiver en lagunes **(WACQUANT et *al.*, 2013).**

2.4. Cystoseira elegans

2.4.1. Description

Cystoseira elegans est une algue qui est très rare par rapport aux autres espèces du genre cystoseira, elle possède un axe primaire court et simple possédant parfois une à deux ramifications. Au niveau de l'apex de ses axes, on retrouve des épines qui l'entourent. Les tophules de Cystoseira elegans sont ovoïdes, et très épineux et les conceptacles sont localisé au niveau de la base des appendices épineux **(Alongi et *al.*,2002)**.

En automne, *Cystoseira elelgans* est au repos, ses branches et ses feuilles apparaissent au début de printemps et disparaissent au début de mois d'aout **(Combaut et *al.*,1981).**

Figure 4 : Spécimen de *Cystoseira elegans* **(Herbonaute,2019)**

2.4.2. Taxonomie

Le tableau 5 représente la taxonomie de *Cystoseira elegans.*

Tableau 5: Taxonomie de *Cystoseira elegans* **(Guiry, 2019)**

Espèce	Embranchement	Classe	Ordre	Famille	Genre
elegans	Ochrophyta	Phaeophyceae	Fucales	Sargassaceae	Cystoseira

2.4.3. Distribution

Cystoseira elegans est une algue qui est typique à la côte méditerranéenne catalane prés de Banyuls sur Mer **(Combaut et *al.*, 1981).**

2.4.4. Composition

Parmis les algues méditerranéennes appartenant à la famille des cystoseiraceae étudiées, seul **Cystoseira elegans** contient de l'éléganolone, de l'époxy-éléganolone et de l'élégandiol, à l'instar de l'algue atlantique **Bifurcaria bijiircata**. Ces composants sont présents en période de développement (au printemps) **(Georges et *al* ,1981).**

Cystoseira elegans contient également des méroditerpènes **(Pallegrini et *al.*, 1997)** et des diterpènes **(Banaigst et *al.*, 1983).**

3. Les radicaux libres et le stress oxydatif

3.1. Les radicaux libres

3.1.1. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant un électron célibataire sur l'orbite externe. Cette caractéristique les rend aptes à réagir avec des molécules lors de réactions en cascades **(Favier., 1997 ; Ivanov., 2008).**

Le danger de la réactivité des radicaux est très variable, dépend de la nature du radical.

En effet, parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, on retrouve l'anion radicalaire superoxyde (O_2°) et comme le monoxyde d'azote (°NO) qui ne sont pas très réactifs mais constituent des précurseurs pouvant être activés en d'autres espèces plus réactives, ce qui leur permet d'ailleurs d'être utilisés par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telle la vasodilatation capillaire.

Par contre des radicaux comme les peroxyls (ROO°) ou surtout le radical hydroxyl (HO°) sont extrêmement réactifs, et ce, avec toutes les molécules des tissus vivants qui pourront donc être présentées, à tort, comme des piégeurs, voire des antioxydants. D'autres espèces dérivées dites espèces actives de l'oxygène, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou le nitroperoxyde (ONOOH), sont aussi réactives. L'ensemble des radicaux libres et de leur précurseur est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène **(Favier.,1997).**

Les espèces oxygénées réactives sont donc la conséquence inévitable de la consommation de l'oxygène moléculaire par l'organisme. Leur production est permanente et physiologique **(Koechlin-Ramonatxo.,2006).**

3.1.2. Les différents types de radicaux libres

Les principales espèces réactives de l'oxygène qu'on peut retrouver sont répertoriés dans le tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6: Les espèces réactives de l'oxygène

Espèces réactives	Réaction de formation	Propriétés
L'anion superoxyde ($O_2^{-\circ}$)	Formé par la réduction mon-électrique de l'oxygène : $O_2 + 1\ e^- \longrightarrow O_2^{-\bullet}$	C'est le radical le moins actif mais le précurseur des autres ERO **(Koechlin-Ramonatxo., 2006).**
Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)	Produit à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysée par la superoxyde dismutase **(Raccah.D, 2004)** $O_2^{-\bullet} + O_2^- \longrightarrow H_2O_2 + O_2$	La majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à générer le radical hydroxyle ($OH^{-\circ}$) **(Gardès et *al.*, 2003)**
Le radical hydroxyle ($OH^{-\circ}$)	Formé par la réaction de Fenton à partir d'H_2O_2 , en présence des métaux de transition : L'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène **(Goudable et *al.*, 1997)** $\mathbf{H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow OH^- + Fe^{3+} + HO^{\bullet}}$	Le radical hydroxyle **$HO^{\bullet}$** Est le radical le plus avide d'électron et le plus dangereux pour l'organisme **(Gardès et *al.*, 2003)**
Le monoxyde d'azote (NO)	Le NO est formé à partir de l'un des deux atomes d'azote terminal du groupement de L-arginine, d'une part, et de l'oxygène moléculaire d'autre part.	Le NO est un radical libre qui est surtout réputé pour ses propriétés physiologiques (agit sur le tonus vasculaire) **(Barouki., 2006).**
Le peroxynitrite ($ONOO^-$)	En l'absence d'une quantité suffisante de cofacteurs ou de substrat (arginine), les NOS produisent de l'anion superoxyde ($O_2^{-\circ}$) plutôt que du $NO^{\bullet}$. L'$O_2^{-\circ}$ produit lie le $NO^{\bullet}$ Pour former le peroxynitrite.	Très réactif, il engendre des oxydations irréversibles et des nitrations diverses. **(Massion et *al.*, 2002).**

3.1.3. Les sources des espèces réactives d'oxygène (ERO)

Les espèces réactives d'oxygène « EOR » sont produites au cours de nombreux processus métaboliques, notamment la respiration mitochondriale et l'activité des enzymes (cytochrome P-450, NADPH oxydase Nitrique oxyde synthase et xanthine oxydoréductase) **(Afonso et *al.*, 2007).**

Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente (fission homolytique) pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électrons à partir d'un composé non radical (figure 4).

Du fait de leur instabilité énergétique, les radicaux libres ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en donnant un électron ou en prenant une à une autre molécule ; ils peuvent donc être réducteurs ou oxydants.

En jouant le rôle d'accepteur ou donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de la nano- à la milliseconde) **(Koechlin-Ramonatxo. ,2006 ; Afonso et *al.*, 2007).**

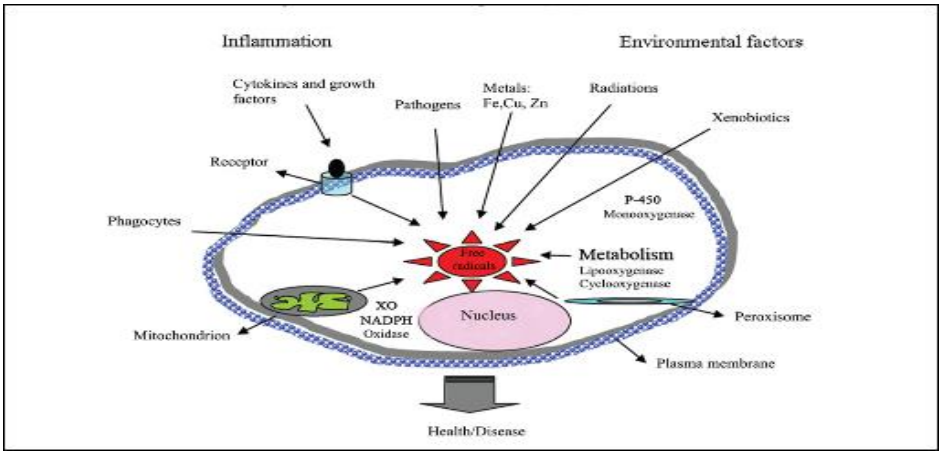

Figure 5: Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène **(Afonso et *al.*, 2007).**

3.2. Stress oxydatif

3.2.1. Définition du stress oxydant

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives d'oxygènes (ERO), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défense des antioxydants.

3.2.2. Les conséquences du stress oxydant

Le stress oxydatif provoque la désorganisation des membranes, par peroxydation des lipides, à l'oxydation des protéines et de l'ADN (mutations). L'atteinte moléculaire quant à elle aboutit à une altération de la signalisation cellulaire, favorisant des processus de catabolisme et de mort cellulaire (atrophie, cachexie), à l'origine d'une altération même de la fonction d'un organe. **(Koechlin-Ramonatxo.,2006 ; Ré et *al*.,2005)**

3.2.3. Système de défense d'antioxydants

Les effets physiologiques des ERO ne s'observent que lorsqu'il existe un équilibre entre ces substances et les antioxydants qui représentent un système de protection cellulaire face à la réactivité des espèces oxygénées.

Actuellement, deux systèmes de défense ont été mis en évidence. L'un est endogène, il est constitué d'un système enzymatique ou d'agents réducteurs (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase, complexe enzymatique de la thiorédoxine) et d'un système non enzymatique comme les endonucléases et quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes); dont l'action est de neutraliser les EOR par leur transformation en molécules stables et non réactives.

L'autre est exogène, il est apporté par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque **(Haleng et *al*.,2007).**

On retrouve :

3.2.3.1. Le système enzymatique

3.2.3.1.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde O2 par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

3.2.3.1.2. Les glutathion peroxydases (GPxs)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH).

Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.1.3. Le système thiorédoxine

Le milieu intracellulaire est plutôt réducteur, les protéines contiennent des groupements thiols libres et les ponts disulfurés sont rares. L'antioxydant majeur responsable du maintien des protéines à l'état réduit est la thiorédoxine qui sera régénérée par le NADPH sous l'action de la thiorédoxine réductase (TrxR) qui possède un groupement sélénocystéine dans son site actif. Elle intervient dans la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène, ainsi que dans la régénération du radical ascorbyl en acide ascorbique **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.1.4. La catalase

La catalase catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène moléculaire.

Selon la réaction :2 H_2O_2 ⟶ 2 H_2O + O_2 **(Vamecq et *al.*, 2004).**

L'un des rôles majeurs de lacatalase est donc de diminuer la formation des radicaux hydroxyles générés via la réaction de Fenton à partir du peroxyde d'hydrogène **(Favier., 2003)**.

3.2.3.2. Le système non enzymatique

3.2.3.2.1. Le glutathion et les protéines-thiols

Le glutathion est un tripeptide (acide glutamique-cystéine-glycine). Il est le thiol (-SH) majoritaire au niveau intra-cellulaire (l'albumine étant son équivalent plasmatique) où il est présent sous forme essentiellement réduite (GSH). Dans des conditions physiologiques, sa forme oxydée (GSSG) est en concentration très faible. Le rapport GSH/GSSG est considéré comme un excellent marqueur de la peroxydation lipidique et permet d'objectiver

l'importance du stress. Au cours du vieillissement et lors d'un exercice intense, ce rapport tend à diminuer. Les autres propriétés antioxydantes du GSH sont nombreuses : cofacteur de la GPx, chélateur des métaux de transition, régénérateur final des vitamines E et C, à partir de leur forme radicalaire. La plupart des protéines dont l'albumine contiennent des groupements « thiols » qui possèdent des propriétés réductrices et piègent facilement les espèces oxygénées activées

3.2.3.2.2. La vitamine C

La vitamine C est, avant tout, un excellent piégeur des ERO (HO• ou O2 •-),elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.2.3. La vitamine E

Ce terme désigne un ensemble d'isomères, les tocophérols et les tocotriénols. D'un point de vue biologique, deux isomères sont particulièrement intéressants, l'α- et le γ-tocophérol. Leur caractère hydrophobe leur permet de s'insérer au sein des membranes riches en acides gras polyinsaturés, où ils jouent un rôle protecteur en réagissant avec les radicaux peroxyles (ROO•).

Ils forment un radical tocophéryle **(Haleng et *al.*,2007),** relativement plus stable, empêchant ainsi la propagation de la peroxydation lipidique par rupture de la réaction en chaine de transfert d'un radical peroxyde d'un lipide à un autre **(Vamecq et *al.*, 2004).**

3.2.3.2.4. Les caroténoïdes

Plus de 600 caroténoïdes différents ont été isolés à partir de sources naturelles, mais seul un petit nombre d'entre eux se retrouvent dans le sang et les tissus animaux. Les fruits et les légumes en sont les principales sources alimentaires. Le chef de file des caroténoïdes est cependant le β-carotène, également appelé provitamine **A** car, après hydrolyse hépatique, il donne naissance à deux molécules de vitamine A. Tous les caroténoïdes ne possèdent pas, toutefois, cette propriété particulière **(Haleng et *al.*,2007).**

Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants, les algues brunes possèdent la valeur la plus élevée en caroténoïdes et également en fucoxanthine, β-carotène et violaxanthine. Néanmoins,

on peut retrouver, chez les algues rouges du β-carotène, α-carotène et leurs dérivés dihydroxylés : zeaxanthine et lutéine **(Haleng et *al.*,2007).**

Spécifiquement chez les algues vertes, on retrouve des caroténoïdes voisins de celles des plantes supérieures. Nombreuses sont les études qui ont démontré les propriétés anti-oxydantes des caroténoïdes algaux et le rôle qu'ils jouent dans la prévention de plusieurs pathologies liées au stress oxydatif **(Marfaing et Lerat., 2007).**

3.2.3.2.5. Le Coenzyme Q10

Le coenzyme Q10 appelé ubiquinone en raison de son ubiquité dans les cellules, est un dérivé benzoquinolique avec une longue chaîne latérale isoprénique. Cette chaîne latérale confère à la molécule un caractère lipophile qui lui permet de s'insérer dans les membranes et les lipoprotéines. Il joue un rôle essentiel dans la chaîne mitochondriale de transport d'électrons et est un puissant inhibiteur de peroxydation lipidique, en synergie avec la vitamine E. Il est à noter que la synthèse de cet antioxydant est, en tout point, parallèle à celle du cholestérol. Or, les agents hypocholestérolémiants comme les statines agissent en inhibant cette dernière enzyme, ce qui a, comme effet secondaire, une réduction significative du taux plasmatique d'ubiquinone **(Haleng et *al.*, 2007).**

3.2.3.2.6. L'acide urique

C'est un piégeur puissant de radicaux (OH•, ROO•, NOO• …). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C) **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.2.7. La bilirubine

La bilirubine résulte essentiellement du catabolisme de l'hémoglobine par les cellules réticuloendothéliales, elle est capable de piéger ROO• et l'oxygène singulet, en protégeant ainsi l'albumine et les acides gras liés à l'albumine des attaques radicalaires **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.2.8. Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. Globalement, ce sont d'excellents piégeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre **(Haleng et *al.*,2007).**

3.2.3.2.9. Les oligoéléments

Les oligoéléments comme le sélénium, le zinc et le cuivre agissent dans les processus de défense de l'organisme contre le stress oxydatif, en étant des cofacteurs de plusieurs enzymes qui ont le rôle de piéger les radicaux libres **(Haleng et *al.*,2007).**

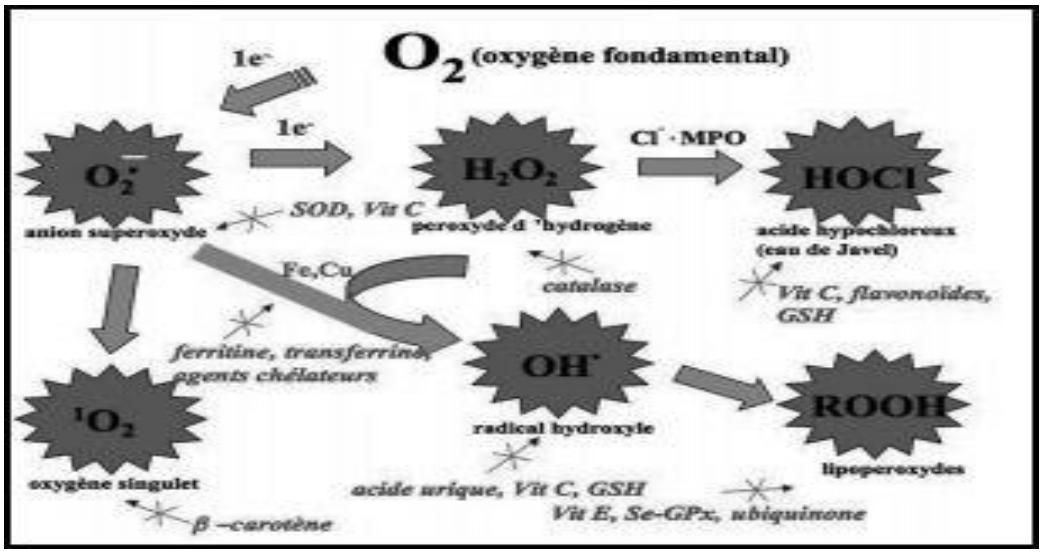

Figure 6: Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production **(Haleng et *al.*,2007).**

Partie expérimentale

I. Objectif et problématique

Plusieurs recherches ont mis en évidence l'impact négatif du stress oxydant sur la santé, notamment par la favorisation de la survenue de pathologies inflammatoires chroniques telles que l'athérosclérose, le cancer, le diabète de type 2, les maladies neurodégénératives et les maladies rhumatismales. Ainsi, il est légitime de penser que la lutte contre le stress oxydant par la supplémentation en antioxydants pourrait tendre à atténuer l'apparition de ces pathologies (**DE MOFFARTS *et al*.,2005 ; ROBERT *et al*., 2009 ; PASTRE et PRIYMENKO., 2007).**

L'exploration des ressources naturelles apparaît comme une piste de recherche prometteuse car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives.

Le présent travail est une contribution à la valorisation de la flore algale Algérienne, par l'étude de l'activité antioxydante des quatre extraits algaux de ***Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, Zonaria tournefortii et Dilophus fasciola.*** Ces dernières appartiennent aux **Phéophytes** (algues brunes) qui se retrouvent dans le bassin méditerranéen et connues pour leur riche teneur en polyphénols.

L'activité antioxydante des extraits d'algue a été évaluée par deux différentes méthodes : pouvoir du piégeage du DPPH (2-2 Diphényl-1-Picrylhydrazyl) et FRAP (Ferric Ion Reducing Antioxydant Power).

Cette étude a été réalisée au niveau du Laboratoire de Recherche « Santé & Productions Animales » dans une période allant de septembre à décembre 2018, à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel de laboratoire

Le matériel ainsi que les réactifs utilisés sont représentés dans le tableau ci-dessous

Tableau 7: Matériel et réactifs de laboratoire

Matériels de laboratoire	**Appareillages**	**Solvants et autres produits**	**Réactifs**
Bécher	Agitateur magnétique	Méthanol	Acide gallique(C7H6O)
Les filtres	Balance analytique	Dichlorométhane	Carbonate de sodium (Na2CO3)
Entonnoir	Broyeur	Eau distillée	DPPH (2-2Diphényl-1Picrylhydrazyl)
Eprouvette graduée	Etuve		Quercétine
Micropipette	Lecteur de microplaques		Ferricyanure de potassium ($K3Fe(CN)_6$, 1%)
Tubes à essai	Spectrophotomètre		Chlorure de ferrique ($FeCl_3$, 0,1%)
Tubes Eppendorf			Acide trichloracétique ($C_2HCl_3O_2$) Réactif de Folin ciocalteu

1.2. Matériel biologique (extraits)

Les extraits algaux des quatre espèces : ***Zonaria tourfnfortii, Dilophus fasciola, Cystoseira elegans, Cystoseira barbata***, ont été obtenu par macération des algues préalablement lavée séchée et broyé, dans un mélange de méthanol et dichlorométhane pendant 72h.

La phase liquidienne a été récupérée et séchée à l'étuve pour en récupérer des extraits. Ces derniers sont conservés au frais jusqu'à leur utilisation.

2. Méthodes

2.1. Dosages des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols des extraits algales *de* ***Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, Dilophus fasciola, Zonariatournefortii***a été déterminée par spectrophotométrie, suivant la méthode de follin-ciocalteu et en se référant à une courbe d'acide gallique comme référence **(Dorman et *al*., 2003).**

Une solution aqueuse d'acide gallique de 2mg/ml est préparée. Des dilutions en demi sont ensuite effectuées afin de générer une gamme de concentration allant de 2mg/ml à 0.03125 mg/ml.

Par ailleurs, 100µl de suspensions aqueuses d'extrait de *Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, Zonaria tournefortii* et D*ilophus fasciola*, concentrées à 100 mg/ml chacune ont été ajoutées respectivement à 6 ml d'eau distillée puis mélangées à 500 µl de réactif phénolique de Folin-Ciocalteu ; 1,5 ml d'une solution aqueuse à 20% de Na2CO3 ont été ajoutés aux mélanges. Ces derniers sont ensuite agités au vortex et complétés avec de l'eau à 10 ml. Pour le témoin négatif, seul le réactif de Folin-Ciocalteu a été ajouté.

Après incubation dans l'obscurité, à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance des échantillons a été mesurée en spectrophotométrie à 765 nm (Shimadzu UV-1800).

Les polyphénols totaux (PPT) ont été estimés comme équivalents d'acide gallique (EAG) et exprimés en mg EAG/g d'extrait.

2.2. L'évaluation de l'activité anti-oxydante

2.2.1. Le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Cette méthode consiste en mesurant le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) et en le calcul de l'IC50. L'essai a été effectué sur microplaque tel décrit par **(Ratashilivha et *al.*, 2014).**

Les échantillons ont été dissous dans du méthanol et dilué en demi de façon à générer une gamme de concentration allant de 100mg/ml, jusqu'à 0.04mg/ml pour les extraits et de 0,4mg/ml à 0,00019 mg/ml pour la quercétine. Brièvement, 40 µl de chaque dilution ont été introduits dans une microplaque de 96. Ensuite, 160 µl d'une solution méthanolique de 2,2-diphényl-1-picryhydrazyle (DPPH) (10 mg / 250 ml) ont été ajoutés dans chaque puits et après 30 min d'incubation à température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 490 nm à l'aide d'un lecteur de plaque (Biotek ELx 800).

2.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur par le FRAP (Ferric Ion Reducing Antioxydant Power)

Le pouvoir réducteur des extraits algaux de différentes espèces et familles a été évalué en utilisant la méthode de FRAP. La méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique Fe3+ en fer ferreux Fe2+. La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants **(Karagozier et *al.*,2008).** Par conséquent, Fe2+ est évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu dans le milieu réactionnel à 700 nm **(Chung et *al.*,2002).**

Le composé antioxydant présent dans les échantillons forme un complexe coloré avec du ferricyanure de potassium, de l'acide trichloracétique et du chlorure ferrique, qui est mesuré à 700 nm par spectrophotométrie.

Le pouvoir réducteur est déterminé selon la méthode rapportée par **Vijayalakshmi et Ruckmani (2016)**, 2,5 ml d'une solution tampon de phosphate (0,2 M, PH 6,6) ont été ajouté aux différentes concentrations d'extrait (50mg/ml, 25mg/ml, 12.5mg/ml) et (0.02mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.005mg/ml, 0.0025mg/ml) pour la quercétine. Ensuite, 2,5 ml de ferricyanure de potassium (K3Fe (CN)6, 1%) ont été mélangé à cette solution.

Après incubation à 50°C pendant 20 minutes, 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont ajoutés au mélange avant d'être centrifugé à 3000 rpm pendant 10 minutes à température ambiante ; 2,5 ml de surnagent sont additionnés à 2,5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique (Fe Cl_3, 0,1%).

L'absorbance est lue à 700 nm. Le contrôle positif est représenté par un anti oxydant standard ; la quercétine dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons est utilisée comme étalon.

III. Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2003, afin de déterminer les moyennes et les écart-types. Les résultats ont été exprimés sous forme : moyenne ± erreur standard. Pour parvenir à traiter les résultats obtenus, une étude statistique a été réalisée en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur et multifactorielle à l'aide du logiciel STATISTICA 8, afin de mettre en évidence les différences significatives entre les échantillons pour chaque paramètre. Les valeurs ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$.

IV. Résultats et discussions

1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été estimés comme équivalents d'acide gallique (GAE) et exprimés en mg GAE/g d'extrait (tableau 8).

Les données ont été obtenues à partir des densités optiques de la gamme étalon d'acide gallique, elles ont été calculées en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique produit de référence : $y= 0.821x+ 0.020$ (y correspond à la densité optique, et x c'est la concentration) (figure 7). L'équation obtenue servira au calcul des polyphénols totaux, celle-ci est validée par son coefficient de détermination R^2 proche de 1 ($R^2 = 0,9966$) et de sa probabilité significative ($p<0,05$) (tableau 8).

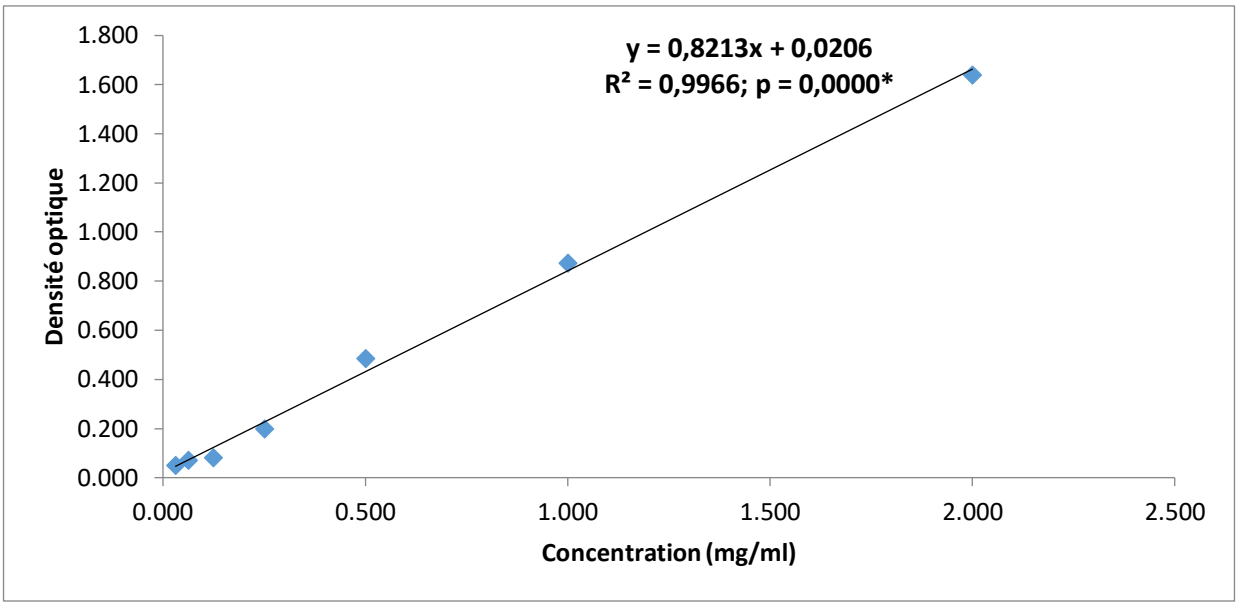

Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

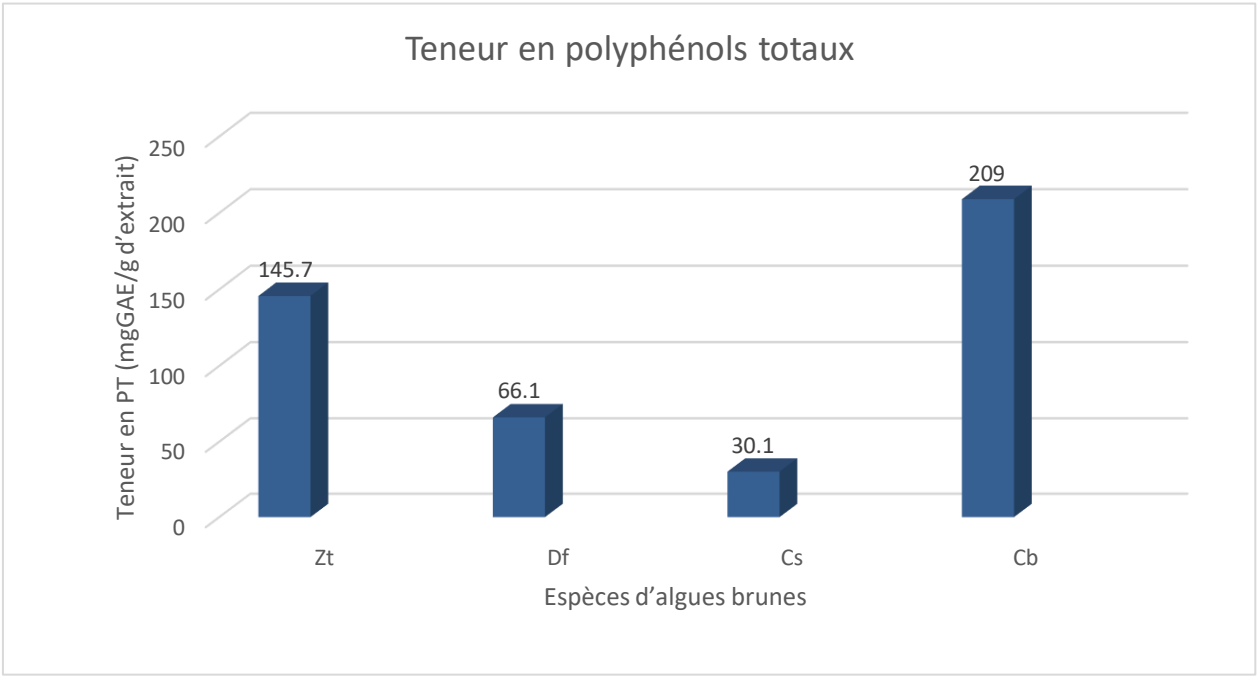

Figure 8: Les différentes teneurs en PPT dans les divers extraits algaux.

Tableau 8 : Table de la variance de la densité optique de l'acide gallique

	DDL	DO SS	DO MS	DO F	P
Intercept	1	4,631528	4,631528	4341,434	**0,000000***
Concentration	6	6,062218	1,010370	947,085	**0,000000***

*** (p<0.05)**

Nos résultats montrent que l'extrait le plus riche en polyphénols totaux est celui de *Cystoseira barbata* suivis par *Zonaria tournefortii* ensuite par celui de *Dilophus fasciola* et l'extrait qui a la plus faible teneur en polyphénols totaux c'est celui de *cystoseira elegans*. En effet, la teneur en PPT chez chaque espèce précédemment citée, obtenu après lecture des densités optiques chez chacune d'elles, a démontré son effet significatif (p<0,05) d'où la validité de ces résultats (tableau 9).

Une étude menée par **Trifan et *al.* (2015)** a rapporté que la teneur en PPT de l'extrait acétonique de *Cystoseira barbata* est de l'ordre de 236.03±1.20 mgGAE/g d'extrait qui est une valeur qui se rapproche au résultat obtenu, par contre une autre étude mené par **Marijana et *al.* (2015**) a trouvé une valeur de 61.74 ± 1.013 µg l PE /mg d'extrait (PE : pyrocatechol equivalents).

Pour *Zonaria tournefortii* la quantité de PPT la plus élevé a été signalé en été (78.46 ± 0.79 mg GAE/100g) **(Fellah et *al*., 2017).**

Il est difficile de comparer nos résultats avec la littérature car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction influence la quantité et la qualité des composants phénoliques qui changent de façon considérable d'une espèce à une autre, par ailleurs d'autres facteurs extrinsèques peuvent être mis en cause notamment le climat, la densité et la qualité de l'ensoleillement, de la photopériode, la profondeur, la température, ainsi que des facteurs physiologiques : stade de reproduction de l'algue, dégrée de maturation. Pour survivre dans les mauvaises conditions, les algues contiennent des composants uniques qu'on ne retrouve pas dans les plantes mais qui n'ont pas encore été mis en évidence et qui diffèrent d'une espèce d'algue à une autre. Ces facteurs agissent ensemble pour influencer les métabolites secondaires **(Fellah et *al*., 2017).**

2. Le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

L'effet du piégeage du DPPH a été calculé comme pourcentage de la décoloration de DPPH en utilisant l'équation suivante

I%= 100-((A échantillon/ A blanc)*100)

I% : est le pourcentage d'inhibition des radicaux libres du DPPH.

A échantillon : est l'absorbance des différents extraits.

A blanc : est l'absorbance du DPPH à blanc.

La lecture au spectrophotomètre a été effectuée en faisant trois essais pour chaque extrait et la quercitrine, les résultats sont présentés ci-après (figures 7-11 et tableau 9) représentant le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits d'algues de *Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, Zonaria tournefortii et Dilophus fasciola*ainsi que celui de la quercétine, et de leur IC50.

Ces résultats sont comparés au pourcentage d'inhibition d'un puissant antioxydant (Quercétine) utilisé dans cette étude comme standard (figure 9).

Dans notre étude, tous les extraits ont réagi positivement au test antiradicalaire, mais suivant des pourcentages d'inhibitions différents (figure 10 -figure 13)

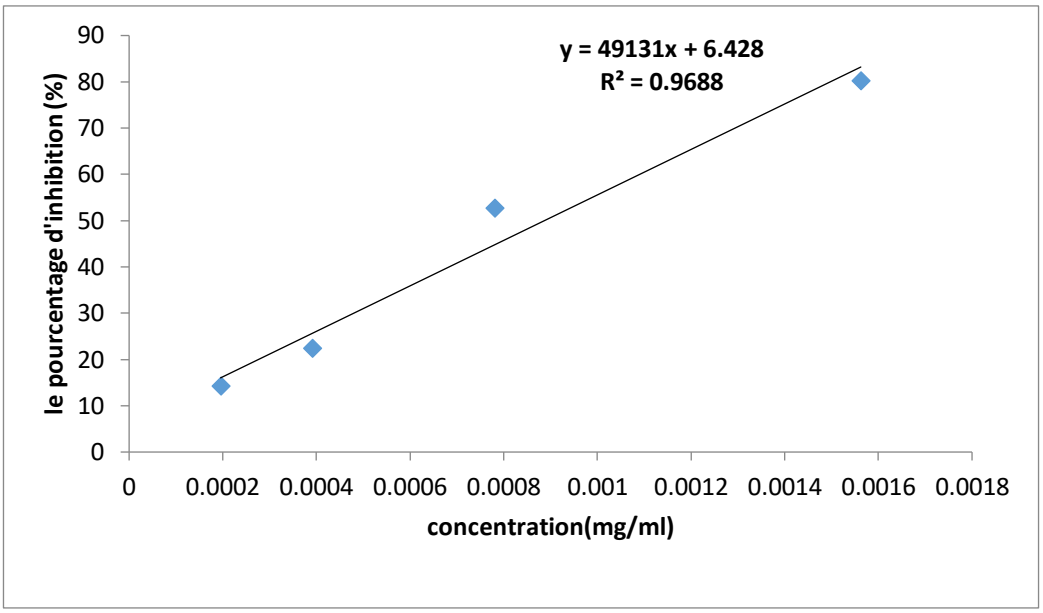

Figure 9 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par la quercitrine

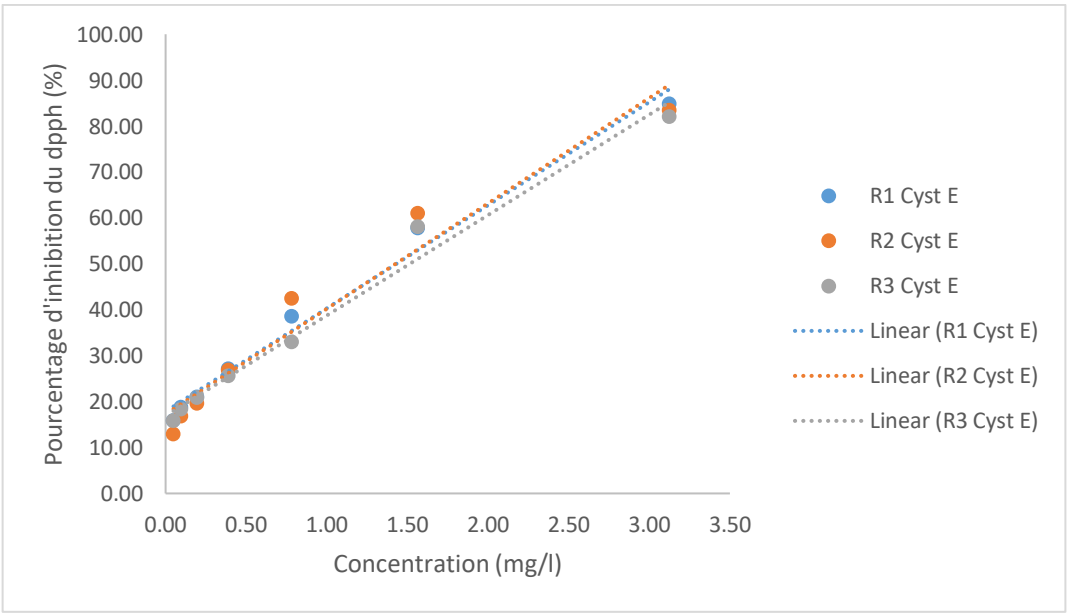

Figure 10 : Inhibition du DPPH par l'extrait de *Cystoseira elegans*

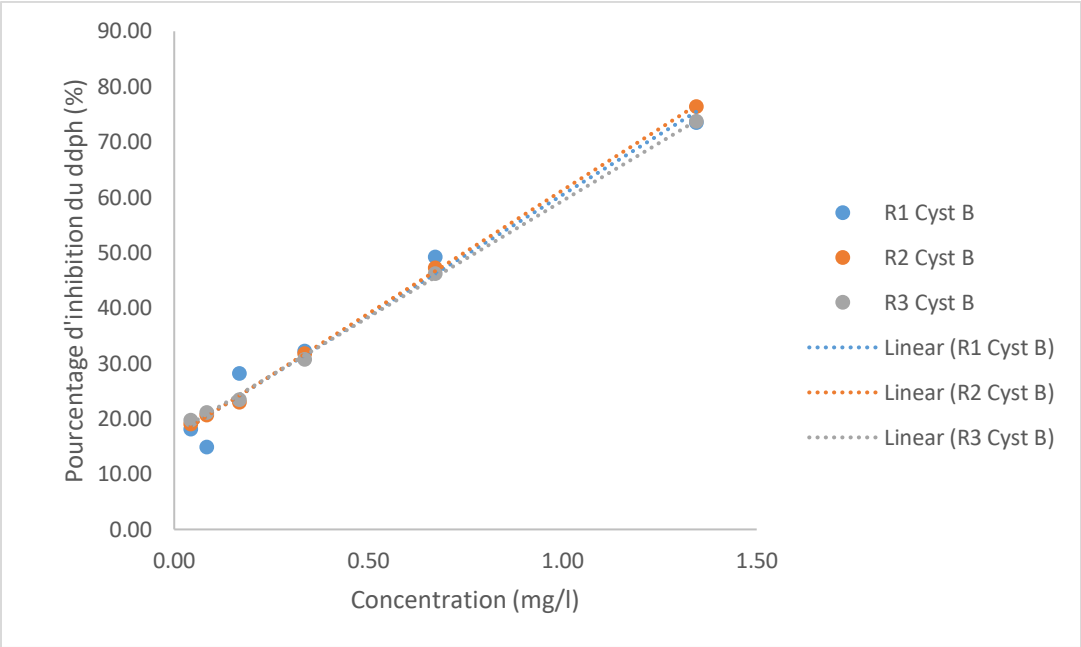

Figure 11 : Inhibitions du DPPH par l'extrait de *Cystoseira barbata*

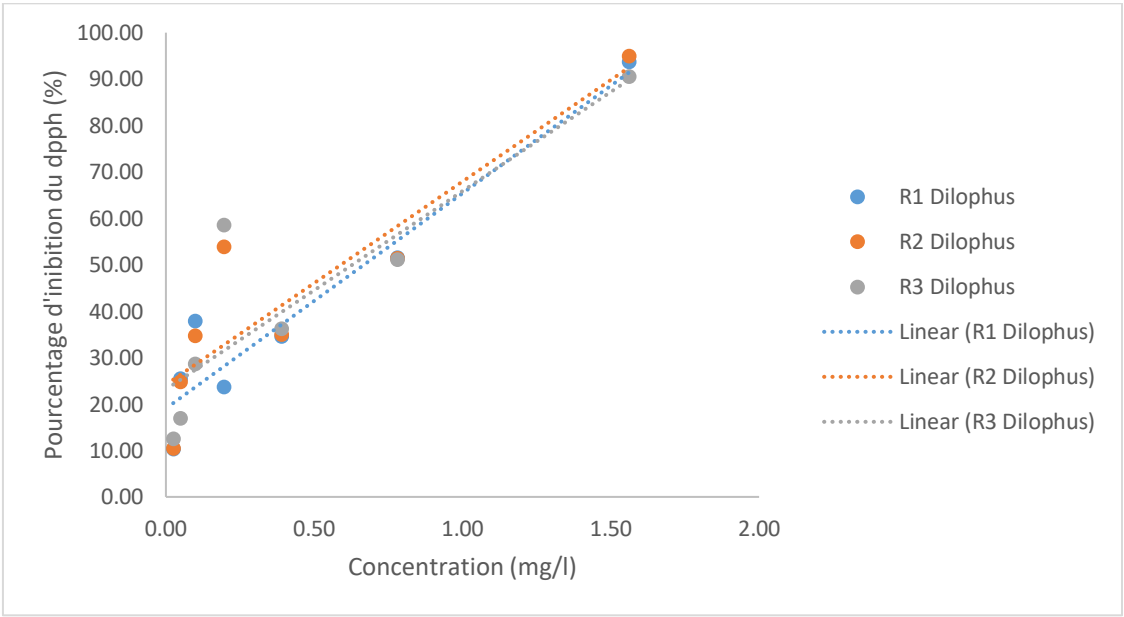

Figure 12 : Inhibition du DPPH par l'extrait de *Dilophus fasciola*

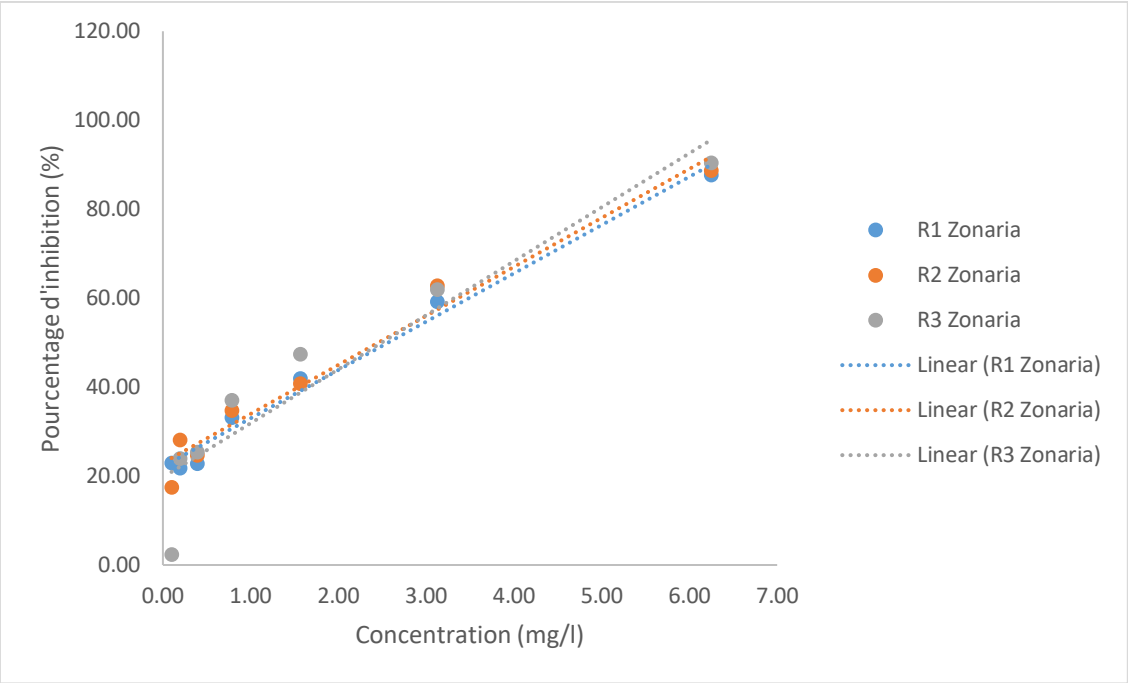

Figure 13 : Inhibition du DPPH par l'extrait de *Zonaria tournefortii*

Une étude menée par **Sellimi et *al.*, (2018)** a montré que la laminarane extraite de *Cystoseira barabata* possède une acticité antioxydante assez intéressante qui a été évalué par la méthode de DPPH. Son pouvoir d'inhibition est de 75 % pour une concentration de 10mg/ml et un IC50 de 5mg/ml.

Sellimi et *al.*,(2014), ont prouvé que les fucanes présents dans *Cystoseira barbata* montrent une bonne activité antioxydante, étant donné qu'elle présente un pourcentage d'inhibition de 100 % pour une concentration de 1.5mg/ml. Par contre concernant notre étude, l'extrait de *Cystoseira barabata* a montré un pourcentage d'inhibition de 75% pour une concentration de 1.34mg/ml.

Pour une meilleure caractérisation de l'activité antioxydante, nous avons introduit le paramètre IC50, qui est par définition la quantité d'antioxydants nécessaires 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 (**Molyneux., 2004).**

Les valeurs d'IC50 sont représentées dans l'histogramme suivant :

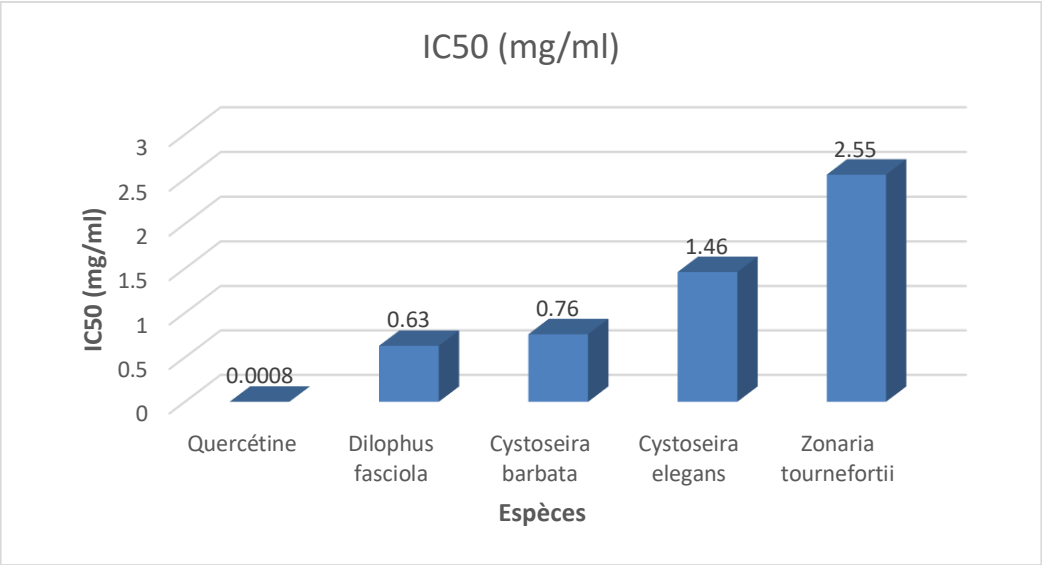

Figure 14 : Les différentes valeurs d'IC50 des extraits et de la quercétine

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

Tableau 9 : Table de la variance de l'effet de l'espèce sur l'IC50

	DDL	IC50 SS	IC50 MS	IC50 F	**P**
Espèce	3	6,98059	2,32686	404,437	**0,000000***
Total	11	7,02661			

En comparant avec l'antioxydant standard (la quercétine) qui démontre un IC50 de 0,0008 mg/ml, nous constatons que les quatre extraits testés possèdent une activité antiradicalaire mais moins importante que celle du standard. L'extrait *Dilophus fasciola* présente une activité remarquable vis-à-vis du piégeage du DPPH avec un IC50 de l'ordre de 0,63mg/ml, suivis de *Cystoseira Barbata* et de *Cystoseira Elegans*, et l'extrait qui a la plus faible activité antiradicalaire est *Zonaria Tournefortii* avec une valeur d'IC50 de 2.55mg/ml. Entre autre, l'analyse de la variance des espèces précédemment citées a confirmé l'effet significatif de l'espèce sur l'IC50 ($p<0,05$) (tableau 9).

Les algues brunes sont connues étant les algues riches en composants et d'antioxydants, en comparent avec les algues rouges et vertes, mais dans la recherche mené par **Fellah et *al.*, (2017)**, ils ont trouvé que l'algue rouge *Sphaerococcus coronopifolius* a une activité antioxydante plus élevé que celle de l'algue brune *Zonaria tournefortii* .

On peut trouver que dans une autre étude mené par **Marijana et *al.*,** qui a étudié l'activité antioxydante de trois algues du genre cystoseira y compris *cystoseira barbata* étant la deuxième algue ayant l'activité antioxydante la plus élevé après *Cystoseira amentacea* avec une valeur d'IC50 de 675.93 ± 2.02µg/ml,521.45 ± 2.12 µg/ml respectivement.

3. Le pouvoir réducteur FRAP

L'analyse du pouvoir réducteur consiste en la mesure de l'augmentation de l'absorbance des ions ferriques (Fe2+) formés, et les résultats des densités optiques de notre standard qui est la quercétine est représentés par le graphe ci-dessous. Le pouvoir réducteur des extraits d'algues sont exprimés en mg équivalent quercétine/ g d'extrait. Les résultats sont calculés en utilisant l'équation de régression de la courbe du produit de référence (quercétine) :

Y=0,4256x-0,1722 (Y correspond à la densité, x à la concentration) (figure 15) et sont représentés dans l'histogramme (figure 16). L'équation est validée par son coefficient de détermination R^2 proche de 1 (R^2 = 0,9966) et de sa probabilité significative ($p<0,05$) (tableau 10).

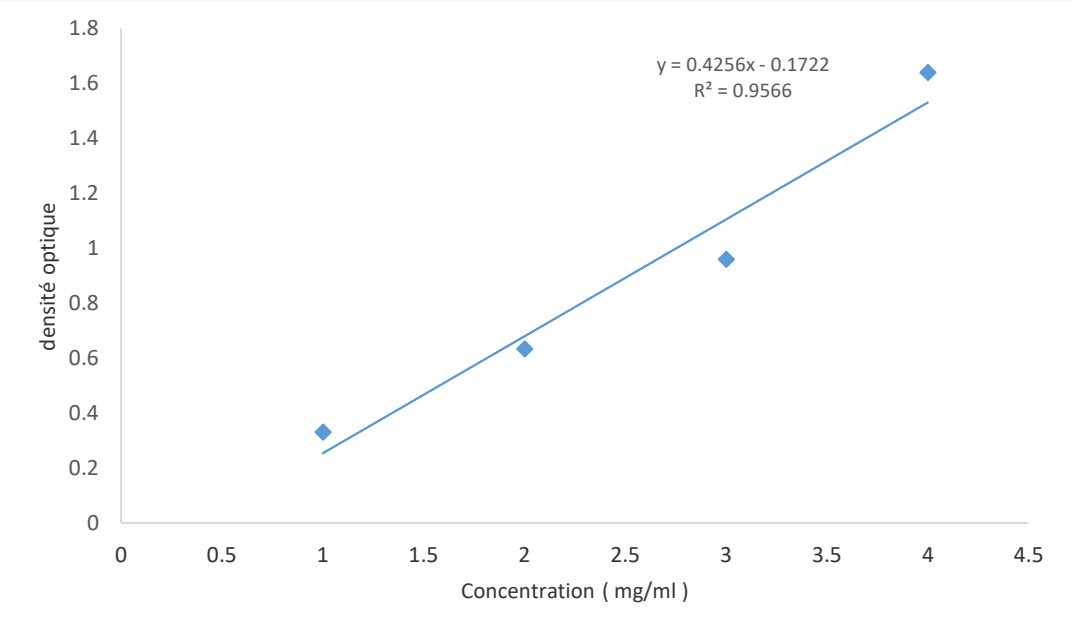

Figure 15 : Le pouvoir réducteur de la quercétine

Tableau 10 : Table de la variance de l'effet de la concentration sur la DO de quercétine

	DDL	DO SS	DO MS	DO F	P
Concentration	3	2,840820	0,946940	1523,23	**0,000000***
Total	11	2,845793			

Les résultats obtenus dans la courbe d'étalonnage montrent que la densité optique est proportionnelle à l'augmentation de la concentration ce qui prouve que le pourvoir réducteur du fer est dose-dependant.

En outre, l'effet de la concentration sur la densité optique obtenu après lecture par spectrophotométrie est significatif ($p<0,05$).

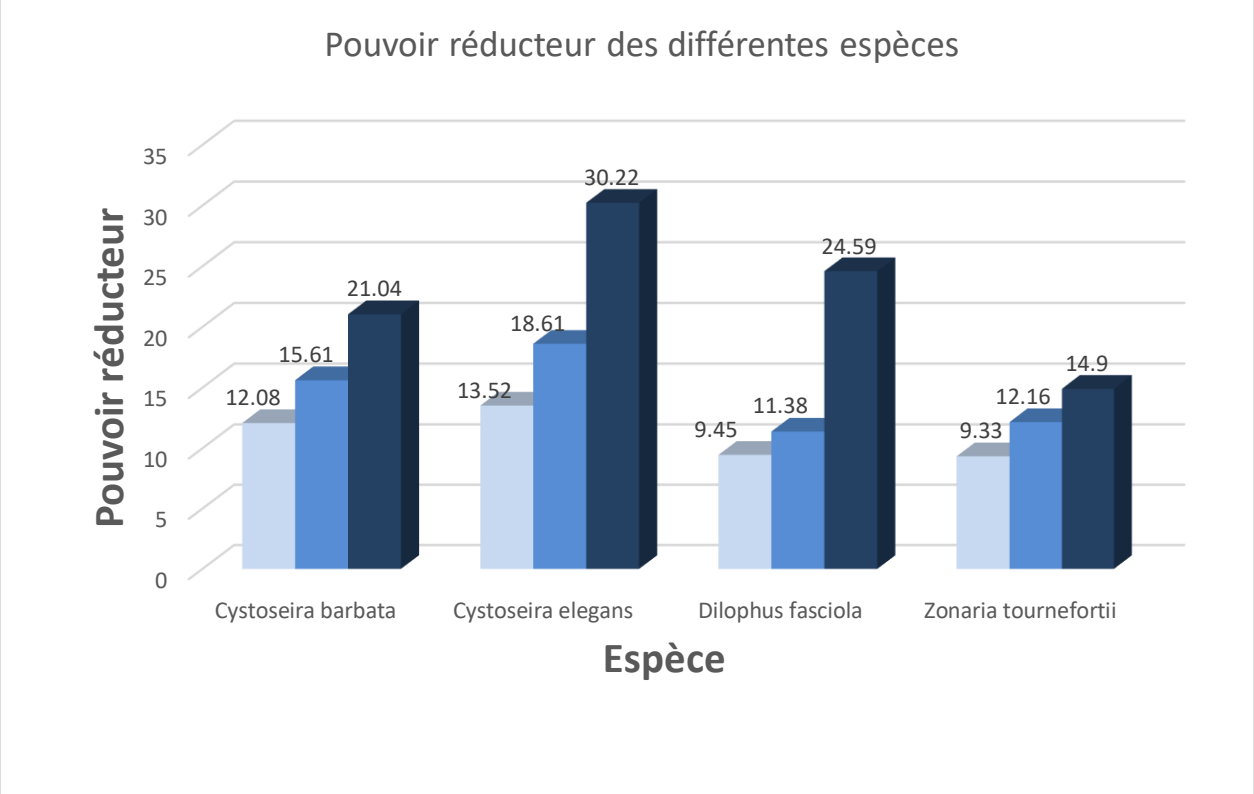

Figure 16 : Le pouvoir réducteur des différents extraits, exprimés en (mg EQ/ g d'extrait)

L'effet de l'espèce et la concentration sur le pouvoir réducteur séparément est significatif ($p<0.05$), l'effet des deux facteurs (concentration et espèces) combinés sur le pouvoir réducteur est significatif ($p <0.05$) (tableau 11).

Tableau 11 : Table de la variance ANOVA factoriel montrant l'effet de l'espèce et de la concentration sur le pouvoir réducteur

	DDL	Pouvoir reduc SS	Pouvoir reduc MS	Pouvoir reduc F	p
Espèce	3	366,78	122,26	44,251	**0,000000***
Concentration	2	1301,61	650,80	235,554	**0,000000***
Espèce*Concentration	6	481,64	80,27	29,055	**0,000000***
Total	35	2216,34			

Les résultats obtenus dans la courbe d'étalonnage montrent que la densité optique est proportionnelle à l'augmentation de la concentration ce qui prouve que la capacité de réduction du fer est dose-dépendant.

Pour une concentration de (12.5 mg/ml), on remarque que l'algue qui a la plus grande capacité à réduire le fer est *Cystoseira elegans* (13.52 mg EQ / g d'extrait±1.02), suivis de *Cystoseira barbata* (12.08 mg EQ / g d'extrait ±1.02), *Zonaria tournefortii* (9.33 mg EQ / g d'extrait±0.35), et *Dilophus fasciola* (9.45 mg EQ / g d'extrait±0.76).

4. Discussion de PPT et activité antioxydante DPPH et pouvoir réducteur FRAP

La plupart des études ont montré une relation entre l'activité antioxydante et les composés phénoliques dans les extraits d'algues, en raison de la présence des phénols qui sont les composants les plus importants dans les plantes à pouvoir piéger les radicaux libres tels que l'oxygène singulet, radicaux superoxydes.

Peu d'études ont rapporté que l'activité antioxydante n'est pas toujours corrélée avec la quantité des PPT présente dans les extraits, concluant ainsi que les phénols ne sont pas les seuls antioxydants responsables de l'activité antioxydante. Ces résultats peuvent indiquer la présence d'autres substances actives qui participent dans l'activité antioxydante telle que la (chlorophylle, caroténoïdes, huiles essentielles, et les polysaccharides de faible poids moléculaire.) **(Kosani.,2015).**

Es-Safi et al., (2007), ont montré au cours de leurs études effectuées sur l'évaluation de l'activité antioxydante de quelques composés isolés de *Globularia alypum* L. l'existence d'une relation entre le pouvoir antioxydant et la structure des composés phénoliques (position des groupements hydroxyles, degré d'hydroxylation du noyau aromatique et glycosylation de la molécule). En effet, Les positions ortho et para des groupements hydroxyles sont essentielles et contribuent à l'activité anti-oxydante des composés phénoliques **(Muchuweti et *al.*, 2007).**

Dans une étude **Djeridane et *al.*, (2006)** ont rapporté que le potentiel antioxydant des composés phénoliques est étroitement associé à leurs structures chimiques, dépendant ainsi du nombre et de position des groupements hydroxyles agrippés au noyau aromatique de ces composés. Ces mêmes auteurs ont évoqué le rôle positif du groupement -CH=CH-COOH dans l'établissement de l'activité antioxydante de l'hydroxycinnamate ; cette molécule a une grande susceptibilité de céder des atomes d'hydrogènes et procure une stabilité ultérieure du radical comparé au groupement carboxyles dans les hydroxybenzoates.

Toutes les données citées ci-dessus peuvent expliquer la différence entre les résultats obtenus dans le dosage des PPT et l'évaluation de l'activité antioxydante. C'est l'effet synergique entre les polyphénols présent et les autres composants comme la chlorophylle attribuant ainsi une activité antioxydante meilleure, et la présence de polyphénols qui ont des groupements hydroxyles donneur d'électrons, responsable de l'activité antioxydante (évaluée par DPPH) supérieure de *Dilophus fasciola* par rapports aux autres algues, malgré sa teneur en PPT faible comparée avec celle des autres algues.

Plusieurs méthodes in vitro sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des aliments, des plantes et d'autres substances, la plupart sont basés sur les réactions de transfert d'électrons singulet et d'hydrogène. Malgré la similarité des principes de chaque méthode, mais leur sensibilité dépend de plusieurs facteurs, comme le PH, présence des composants lipophiles, hydrophile et autres **(Pokorna et *al.*, 2015).**

Néanmoins, il n'y a pas toujours une bonne cohérence entre les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydantes **(Claudia.L et *al*, 2015)**, notre étude a également montré une mauvaise cohérence des deux méthodes indiquant ainsi que les composants responsables des deux activités

anti oxydante DPPH et FRAP des quatre extraits d'algues sont des antioxydants autre que les phénols ayant ont une affinité différente pour le DPPH et le fer.

V. Conclusion

Les algues marines forment une source intéressante et très prometteuse de substances biologiquement actives, comme les antioxydants (polyphénols, flavonoïdes, caroténoïdes.).

En réponse à l'objectif de notre étude, celui d'évaluer l'activité antioxydante des algues brunes particulièrement *Cystoseira barbata, Cystoseira elegans, dilophus fasciola et zonaria tournefortii,* par les deux méthodes pouvoir de piégeage du DPPH et le pouvoir réducteur de fer (FRAP), nous avons pu conclure au travers des résultats significatifs montrant que Cystoseira ***barabata*** a révélé la teneur la plus élevée en PPT (**209mgGAE/g d'extrait**). Paradoxalement, l'activité antioxydante la plus importante enregistrée parmi les espèces étudiées est attribué à ***Dilophus fasciola*** avec un IC50 de 0,63±0,04mg/ml. Entre autres, ***Cystoseira elegans*** a révélé le pouvoir réducteur le plus signifiant comparativement aux autres espèces étudiées. Ces résultats ont été vérifiés par l'étude de leur variance qui s'est révélé significative à l'unanimité ($p<0.05$).

En perspectives à la présente étude, des travaux de recherches complémentaires dans le futur seraient d'une grande utilité à définir la composante des extraits étudiés et définir les molécules responsables de l'activité antioxydante. Il serait également intéressant d'évaluer leurs effets préventif et pharmacologique notamment sur les maladies générées par le stress oxydatif.

.

-A-

Alejandro M.S. Mayera, Abimael D. Rodríguezb, Roberto G.S. Berlinckc, Mark T. Hamann. Marine pharmacology in 2003–4: Marine compounds with anthelminticantibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial,antiplatelet, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities;affecting the cardiovascular, immune and nervous systems,and other miscellaneous mechanisms of action. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 145 (2007) 553–581.

Alongi G., M. Catra, M. Cormaci et G. Furnari. Observations on Cystoseira squarrosa De Notaris (Fucophyceae,Fucales), a Rare and Little Known Mediterranean Species, and Its Typification. Botanica Marina. 2002, vol. 45, pp. 530 – 535.

Afonso. V, Romuald Champy, Dragoslav Mitrovic, Pascal Collin, Abderrahim Lomri. Reactive oxygen species and superoxide dismutases:Role in joint diseases. Joint Bone Spine 34, 2007, pp 324-328**.**

Ainan Tarik, Valorisation de la biomasse algale du Maroc: Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes Cystoseira tamariscifolia et Bifurcaria bifurcata. Doctorat : en chimie analytique. Maroc, ROYAUME DU MAROC Université Hassan II - Casablanca Faculté des Science Ben M'sik Casablanca,2011,184pages. Disponible sur : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00637002.

-B-

B. Banaigst, C. Francisco et Gonzalez. Diterpenoid metabolites from the marine alga *Cystoseira elegans. Tetrahedron*. 1983, Vol. 19. No 4, 926-936pp.

Barouki, R. Stress oxydant et vieillissement. Médecine sciences. 2006, 22(3): pp266-272

- C –

CHATTER RIAHI.R, S. TARHOUNI ET R. KHARRAT. Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. *Archs. Inst. Pasteur Tunis*. 2011, pp19-28.

Raccah, D. Épidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. EMC-Endocrinologie. 1: 29-42.

Chouikhi. A. 4th International congress of the populations & Animal communities « Dynamics & Biodiversity of terrestrial & aquatic Ecosystems » « CIPCA4 », 19-21 Novembre 2013, TAGHIT (Bechar)-Algeria. Bab Ezzouar : Usthb,40pages.

Disponible sur : http://fbiol.usthb.dz/IMG/pdf/paper_44.pdf.

Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T.,.Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by Bacillus subtilis IMR-NK1. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002.

Combaut Georges, Louis Codomier et Jean Teste. Seasonal chemical evolution of the alga *Cystoseira Elegans.* Phytochemistry. 1981, Vol20, N08, 2036-2038pp.

-D-

DE MOFFARTS B., N. KIRSCHVINK1, J. PINCEMAIL, P. LEKEUX. Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Ann. Méd. Vét.* 2005, 149, pp 1-9.

Disponible sur :https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/6737/1/DeMoffartB_AnnMedVet_2005.pdf, consulté le 11-12-2018.

Dorman, H.J.D., Kosar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties and cultivars. J. Agric. Food Chem, 2003, 51: pp 4563-4569.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry. 2006, 97: 654–660.

-E-

Efstathia Ioannou, Constantinos Vagias, et Vassilios Roussis. Isolation and Structure Elucidation of Three New Dolastanes from the Brown Alga Dilophus spiralis. Marine Drugs. 2013,1104-1112 pages. Disponible sur : https://pdfs.semanticscholar.org/f109/a961ff7852016fc410f8805606e5160a0a24.pdf

Consulté : 10/10/2018. ISSN : 1660-3397.

Es-Safi N., Kollmann A., Khlifi S. et Ducrot P.H. Antioxidative effect of compounds isolated from Globularia alypum L., structure–activity relationship. 2007, LWT. 40:1246–1252

-F-

Favier.A . Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marqueur. John Libbey EUROTEXT. 1997,Volume 55, numéro1.

Fellah F., H. Louaileche, A. Dehbi-Zebboudj, N. Touati. Seasonal variations in the phenolic compound content and antioxidant activities of three selected species of seaweeds from Tiskerth islet, Bejaia, Algeria. J. Mater. Environ. Sci., 2017, Volume 8, Issue 12, Page 4451-4456

Food and Agriculture Organization (FAO). Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche: méditerranée et mer noire zone de pêche 37. CEE; FAO. 1987,Pp. 522.

-G-

Gardès-Albert, M., Bonne font-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. Espèces réactives de l'oxygène, Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, L'actualité chimique. 2003, pp 91-95.

Goudable, J., Favier, A. Radicaux libres oxygéné s et antioxydants, Nutr. Clin. Métabol. (1997). 11: 115-20.

Guiry, M.D. & Guiry, G.M. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway,2019. Disponible sur : http://www.algaebase.org; consulté le : 12 /01/2019.

-H-

Haleng.J., J Pencemail.,J.O.Defraigne.,C.Charlier., J.P.Chapelle. Le stress oxydant,Revue médicale de Liège,2007,vol.62,pp. 628-38. Disponible sur : https://orbi.uliege.be/handle/2268/8914 (consulté le 13-12-2018), ISSN (0370-629X).

-I-

Iltis André. Les algues.1980, 6pages.Disponibles sur : http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/Idt/00552.pdf (Consulté le 01/10/1018).

Ivanov I. Free radicals and cares for aging pets. Trakia Journal of Sciences. 2008, 6 (1): 152-154.

-J-

Jégou.C. Étude du genre Cystoseira des côtes bretonnes : taxinomie, écologie et caractérisation de substances naturelles. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Bretagne Occidentale, 2011. Français. Disponible sur : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01167228/file/Manuscrit_these_camille_jegou.pdf

-K-

Koechlin-Ramonatxo Christelle, Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires,2006.

Karagozier,A. ; Erdag,B. ; Calmaz Emek,Y.,: Antioxydantactivity andproline content of leaf extracts from Dorystoechas hastate, Food Chemistry, 111: 400,2008.

-L-

LAMARE Véronique, **VERLAQUE Marc**. DORIS, 2017. Disponible sur : http://doris.ffessm.fr/Especes/Dictyota-fasciola-Dictyote-rubanee-1280. Consulté le : 2/02/2019.

LAMARE Véronique, **DUPRÉ Catherine.** DORIS,2017. Disponible sur : http://doris.ffessm.fr/Especes/Zonaria-tournefortii-Zonee-jaune-1591. Consulté le : 2/02/2019.

Lionard Marie, Éric Tamigneaux, Isabelle Gendron-Lemieux, Karine Berger. Présentation du potentiel d'utilisation de la biomasse algale sur la Côte-Nord (en ligne). Rapport

de recherche de développement N°14-03 : merinov (centre d'innovation et de l'aquaculture et des pêches du Québec, Janvier 2014, 23pages. Disponible sur :

http://educatif.eau-et-rivieres.asso.fr/pdf/algues.pdf

-M-

Marfaing.H et Y. Lerat. Les algues ont-elles une place en nutrition ?. Phytothérapie. 2007,4pages. Disponible sur : https://rd.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10298-007-0227-5.pdf (consulté le 12.11.2019).

MARIJANA.K et al. Biological potenteil of marine macroalgae of the genus Cystoseira. Acta Biologica Hungarica.2015, 374–384pages.

Mouritsen Ole G. (2009). Algues marines : propriétés, usages, recettes. Charte De la chaux et Niestlé Université du Danemark du Sud à Odense. P (85-109).

Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol, 2004, 26(2): 211-219.

-O-

Ömer Ertürk, Beyhan Taş. Antibacterial and Antifungal Effects of some marine algae. RESEARCH ARTICLE. 2011, pp122-124.

ONS. Compendium national sur les statistiques de l'environnement.2006, 100pages. ISSN : 1111 – 5084 ISBN : 9961 – 792 – 01 - 7

Ozenda P. 2000. Les végétaux : organisation et diversité biologique. Edition Dunod. Pp. 6569.

ONS (Office National des Statistiques). Compendium National sur les Statistiques de l'Environnement. 2006, ISSN : 1111 – 5084 ISBN : 9961 – 792 – 01 – 7.

-P-

PASTRE J. et N. PRIYMENKO. Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* 2007, 158, 4, pp180-189. Disponible sur : https://www.revmedvet.com/2007/RMV158_180_189.pdf consulté le : 12-11-2018.

Park HJ, Kurokawa M, Shiraki K, Nakamura N, Choi JS et Hattori M. Antiviral activity of the marine alga Symphyocladia latiuscula against herpes simplex virus (HSV-1) in vitro and its therapeutic efficacy against HSV-1 infection in mice. Biol Pharm Bull. 2005, 28(12). Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16327161 , consulté le : 01-02-2019

Person J., Lando D., Mathiu D. (2010).Algues, filières du futur: Livre Turquoise. Adebioihech. 6

Pellegrini Max, Robert Valls, Liliane Pelllegrini. Chimiotaxonomie et marqueurs chimiques dans les algues brunes. Lagascalia 19, 145-164pp.

Pokorna J. et al. Comparaison of different methods og antioxydant activity evaluation of green and roast C.Arabica and C.Robusta coffee beans. Acta Alimentaria.2015 , volume 44 (3), 454-469pages.

-R-

Ratshilivha N., Awouafack M.D., Du Toit E.S., Eloff J.N. The variation in antimicrobial and antioxidant activities of acetone leaf extracts of 12 Moringa oleifera (Moringaceae) trees enables the selection of trees with additional uses, South African Journal of Botany 92, 2014 pp59–64.

Ré D.B., Nafia I., Nieoullon A., Kerkerian Le Goff L. et Had-Aissouni L. Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation. 2005, 24 : 502–509.

ROBERT Fabrice, Karine BEBIN, Jean-Michel GARRAU, Jean-François GUERIOT, Roland FORET, Michel BRACK, Catherine GARREL. Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage. 2009. Journées Recherche Porcine, 41, pp173-178. Disponible sur : http://www.journees-recherche-porcine.com/texte/2009/sante/s02.pdf?fbclid=IwAR2jobr63UxKfnVdj3TGO6MnT94ogX89czU6OmdJn5Sl5ABz-lrYIbh2o70, consulté le : 12-11-2018.

-S-

Sellimi Sabrine, Hana Maalej, Dorsaf Moalla Rekik, Abdelkarim Benslima, Ghada Ksouda, Marwa Hamdi, Zouheir Sahnoun, Li Suming, Moncef Nasri, Mohamed Hajji. Antioxidant, antibacterial and in vivo wound healing properties of laminaran purified from Cystoseira barbata seaweed. Biomac ,(2018).

Sabry, S., Dinh-Xuan, A.T. Le monoxyde d'azote: un médiateur ubiquitaire. Arch. Pediatr. 1996, 3: 275-277.

Sadi Hamza. Le pouvoir antioxydant de quelques algues marines. Thèse de Magister en biologie. Bejaia : Université Abderrahmane Mira,2010,73pages.

Souheili. M et Darani K.K. The potentiel health of algae and micro algae in medecine : A reviex on spirulina. Current Nutrition and food science,2011,7, pp279-285

-T-

Trifan A. et *al*. In vitro antioxydant activity, phenols content and profile pf Cystoseira barbata from Romania black sea.2015.

-V-

Vamecq, L. Vallée, L. Storme, P. Gelé, R. Bordet. Les acteurs immédiats du stress oxydatif. La Lettre du Pharmacologue, 2004, Volume 18 - n° 1,8pages. Disponible sur : https://www.edimark.fr/Front/frontpost/getfiles/8461.pdf

Vijayalakshmi Maruthamuthu and Kandasamy Ruckmani. Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. Bangladesh J Pharmacol,2016, numéro11, pp 570-572.

-Y-

Yassir Bengueddour , Safâa El Hani, Hamid. El Ibaoui, Rachida. El Ayadi et Najiba. Brhadda. Etude de l'activité anti oxydante de Gelidium Sesquipedale par chromatographie liquide haute performance. Nature & Technologie,2014, n° 10, Pages 29 à 33.

Saidani Karima et Bedjou Fatiha, Activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre espèces d'algues marines de la cote de Bejaia. le 11 et 12 avril 2011 à Ouergla. Ouergla : Université de Ouergla,2011, Page 60. Disponible sur : https://dspace.univ-ouargla.dz/jspui/bitstream/123456789/3769/1/SAIDANI%20Karima.pdf?fbclid=IwAR3qynsbEFLe_Z31S8EF8d18e5Vh3ihlnsbvnzl4nxJiY_xZvslrYM3qBsw

Y.Farid, M. Chennaoui, O. Assobhel, S.ET Ahiri. Evaluation de l'effet du lieu de récolte des algues marines des cotes atlantiques marocaines sur l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire. Revue Microbiol.Ind. San et Environnement. Vol 6, Num1, pp 54-66.

Webographie :

Les herbonautes. L'herbier numérique collaboratif citoyen. Disponible sur : http://herbonautes.mnhn.fr/specimens/MNHN/PC/PC0519394, consulté le : 11-02-2019.

LAMARE Véronique**,** VERLAQUE Marc, DORIS, 2017. Disponible sur : http://doris.ffessm.fr/Especes/Dictyota-fasciola-Dictyote-rubanee-1280, consulté le 15/02/2019.

Références bibliographiques

LAMARE Véronique**,** DUPRÉ Catherine, DORIS, 2017. Disponible sur : http://doris.ffessm.fr/Especes/Zonaria-tournefortii-Zonee-jaune-1591/(rOffset)/4, consulté le 15/02/2019.

M.D. Guiry. 2019. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponible sur : http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=1339 consulté le : 05-02-2019.

WACQUANT Claude, **ROBVIEUX Pauline**, **VERLAQUE Marc**, **LAMARE Véronique,** DORIS, 2016. Disponible sur : http://doris.ffessm.fr/Especes/Cystoseira-barbata-Cystoseire-doree-1533/(rOffset)/3, consulté le 15/02/2019.

Résumé :

L'intérêt porté pour les algues marines provient du fait de la présence de substances bioactives présentant de nombreuses activités biologiques, essentiellement des antioxydants (polyphénols, caroténoïdes, flavonoïdes…).

Dans la présente étude, une comparaison entre la teneur enpolyphénols totauxdes quatre espèces d'algues marines *Cystoseirabarbata, Cystoseira elegans, Dilophusfasciola et Zonariatournefortii* ainsi que l'évaluation de leurs activités antioxydantes ont été réalisées.

Les résultats obtenus mettent en évidence la richesse des extrait algaux en polyphénols totaux particulièrement l'espèce *Cystoseirabarbata* (209mgGAE/g d'extrait). Par ailleurs, la mesure de l'activité antiradicalaire du DPPH (: 2-2 Diphényl-1-Picrylhydrazyl) a révélé une activité intéressante des extraits testés avec une démarcation significative de l'extrait de *Dilophusfasciola*comparée aux autres espèces (IC=0,63±0,04 mg/ml).De plus, le pouvoir réducteur le plus important a été attribué à l'extrait de *Cystoseira elegans.*

Mots clés :

Algues marines, *Cystoseirabarbata, Cystoseira elegans, Dilophusfasciola et Zonariatournefortii*, teneurs en polyphénols totaux, DPPH, pouvoir réducteur.

Summary :

The interest in marine algae comes from the presence of bioactive substances with many biological activities, mainly antioxidants (polyphenols, carotenoids, flavonoids...). In this study, a comparison was made between the total polyphenol content of the four seaweed species *Cystoseirabarbata*, *Cystoseira elegans*, *Dilophusfasciola* and *Zonariatournefortii* and their antioxidant activities. The results of the total polyphenol assays indicate the richness of *Cystoseirabarbata*in total polyphenol (209mgGAE/g extract). The measurement of the antiradical activity of DPPH (: 2-2 Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) revealed that the best antioxidant activity is the one of *Dilophusfasciola* compared to the other species (CI=0.63±0.04 mg/ml). However, the most significant reducing power has been attributed to Cystoseira elegans.

Keywords: Seaweed, *Cystoseirabarbata*, *Cystoseira elegans*, *Dilophusfasciola* and *Zonariatournefortii*, total polyphenol levels, DPPH, reducing power.

ملخص

ينبع الاهتمام بالطحالب البحرية من وجود مواد نشطة بيولوجيًا بها العديد من الأنشطة البيولوجية، خاصةً مضادات الأكسدة البوليفينول، الكاروتينويد، الفلافونووويد...

في هذه الدراسة، أجريت مقارنة بين محتوى البوليفينول الكلي من الأنواع الأربعة من الأعشاب البحرية Cystoseira barbata، Cystoseira elegans، Dilophus fasciolaو Zonaria tournfortiiوأنشطتها المضادة للأكسدة.

تشير نتائج فحوصات البوليفينول الكلية إلى ثراء النوع Cystoseira barbata 209مغ/GAEغ من المحتوى .

كشف قياس النشاط الكسح DPPH ثنائي الفينيل أحادي البيكريلهيدرازيل أن أفضل النشاط المضاد للأكسدة هو أن الأنواع الشريطة Dilophus مقارنة مع الأنواع الأخرى: ملغ / مل0.04 ± 0.63 = IC50 . من بين أمور أخرى ، تم إسناد أهم قوة تخفيض الحديد إلى.elegans Cystoseira

كلمات البحث:

الأعشاب البحرية ، Cystoseira barbata، Cystoseira elegans، Dilophus fasciolaو zonaria tournfortii، محتويات البوليفينول الكلية ، DPPH، خفض الطاقة